WHO/CDS/CSR/2001.16
UNAIDS/01.22E
Distr: General
Original: Inglés

ONUSIDA/OMS

Grupo de trabajo ONUSIDA/OMS sobre la vigilancia mundial del VIH/SIDA y de las ITS

Pautas para aplicar las técnicas de los exámenes de detección del VIH a la vigilancia de la infección:

Selección, evaluación y uso

WHO

ONUSIDA

USAID

CDC

WHO/CDS/CSR/2001.16
UNAIDS/01.22E
Distr: General
Original: Inglés

Pautas para aplicar las técnicas de los exámenes de detección del VIH a la vigilancia de la infección:

Selección, evaluación y uso

Centros para el Control
y la Prevención de Enfermedades

Agencia de los Estados Unidos
para el Desarrollo Internacional

Organización Mundial de la Salud (OMS)
Organización Panamericana de la Salud (OPS)

La vigilancia mundial del VIH/SIDA y las infecciones de transmisión sexual constituye una actividad conjunta de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA). El Grupo de Trabajo de OMS/ONUSIDA sobre la Vigilancia Mundial del VIH/SIDA y las Infecciones de Transmisión Sexual se estableció en 1996 como el mecanismo coordinador y ejecutor principal del ONUSIDA y la OMS para recopilar la mejor información que hubiera y mejorar la calidad de los datos necesarios para tomar decisiones y planificar, tanto en la esfera nacional, como en la regional y mundial.

La OMS y ONUSIDA agradecen a todos los que contribuyeron su tiempo, experiencia y sugerencias al perfeccionamiento de estas pautas.

Los Centros para el Control y la Prevención de las Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos de América merecen un reconocimiento especial por la elaboración de estas Pautas. Felicitamos especialmente a los doctores Christopher Murril y Rebecca Martin por su contribución a la producción de este documento, con la colaboración editorial de las señoras Sadhna Patel y Beatrice Divine.

También se agradece especialmente a las doctoras Gaby Vercauteren y Susan Best de la OMS y al Sr. Tim Granade de los CDC por su aporte científico y técnico y por haber revisado el borrador del manuscrito.

Esta documento fue posible gracias al apoyo del Centro de Población, Salud y Nutrición, Oficina Mundial, Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional de Washington, D.C. También se agradece el apoyo para la versión en español del Ministerio de Sanidad y Consumo de España y la Agencia Española de Cooperación Internacional.

© Organización Mundial de la Salud y Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA, 2001.
WHO/CDS/CSR/EDC/2001.16 ONUSIDA/01.22E ISBN 9173-92-063-7

Este documento no constituye una publicación formal de la Organización Mundial de la Salud (OMS) o del Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el SIDA (ONUSIDA), organizaciones que se reservan todos los derechos. No obstante, el documento puede ser revisado, resumido, reproducido o traducido con plena libertad, parcialmente o en su totalidad, siempre y cuando no sea para la venta ni con fines comerciales. Las opiniones expresadas en este documento por autores cuyo nombre se cita son de la exclusiva responsabilidad de dichos autores.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la Organización Mundial de la Salud o el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el SIDA los aprueben o recomienden con preferencia a otros análogos. Con la excepción de errores u omisiones, los nombres comerciales figuran en letra mayúscula.

Índice

Resumen ejecutivo **5**

1.0 Introducción **6**

2.0 Resumen de los aspectos relacionados con el uso los exámenes de detección del VIH para la vigilancia serológica de la infección 8
2.1 Objetivos de los exámenes de detección del VIH 8
2.2 Métodos utilizados en los exámenes de detección del VIH 8
2.3 Poblaciones estudiadas 13
2.4 Medición de la incidencia del VIH 13

3.0 Especímenes utilizados para los exámenes de detección del VIH 15
3.1 Selección del espécimen 15
3.1.1 Ventajas y desventajas relacionadas con el uso de sangre completa, suero y plasma 15
3.1.2 Ventajas y desventajas relacionadas con el uso de orina o saliva 16
3.2 Obtención, procesamiento y almacenamiento de las muestras de sangre 17
3.2.1 Sangre completa, suero y plasma 17
3.2.1.1 Procesamiento de la sangre obtenida por punción venosa 17
3.2.1.2 Almacenamiento de sangre y plasma obtenidos por punción venosa 18
3.2.1.3 Obtención de sangre por punción digital 18
3.2.1.4 Preparación y almacenamiento de gota de sangre seca para la prueba del VIH 19
3.3 Obtención y almacenamiento de orina y secreciones orales 20
3.3.1 Obtención de orina y secreciones orales 20
3.3.1.1 Orina 20
3.3.1.2 Secreciones orales 20
3.3.2 Almacenamiento de orina y secreciones orales 21
3.4 Rotulación y registro de los especímenes 21
3.4.1 Rotulación de los especímenes 21
3.4.2 Registro de los especímenes 21

4.0 Técnicas y estrategias actuales de detección del VIH aplicadas a la vigilancia 23
4.1 Técnicas para la detección del VIH 23
4.1.1 Resumen de los aspectos relacionados con los exámenes de detección del VIH . . . 23
4.1.2 Inmunovaloración enzimática 24
4.1.2.1 Descripción general 24
4.1.2.2 Características de las pruebas de inmunovaloración enzimática 24
4.1.2.3 Cómo se realiza una inmunovaloración enzimática 25
4.1.3 Pruebas rápidas 26
4.1.3.1 Descripción general 26

4.1.3.2 Características de las pruebas rápidas 27
4.1.3.3 Cómo se realiza una prueba rápida. 29
4.2 Estrategias de detección del VIH aplicadas a la vigilancia 29

5.0 Selección y evaluación de las técnicas para los exámenes de detección del VIH aplicadas a la vigilancia del VIH 32
5.1 Selección de los exámenes. 32
5.2 Evaluación nacional de los exámenes seleccionados. 35

6.0 Selección de los exámenes 37
6.1 Evaluación nacional de los exámenes seleccionados. 37
6.2 Garantía de calidad en el laboratorio. 38
6.2.1 Fase prenalítica 38
6.2.2 Fase analítica 39
6.2.3 Fase posanalítica. 39
6.3 Procedimiento de seguridad 39

7.0 Garantía de calidad y seguridad en el laboratorio
7.1 Garantía de calidad en el ámbito nacional. . . . . .
7.2 Garantía de calidad en el laboratorio. . . . . .
7.2.1 Fase preanalítica . . . . . .
7.2.2 Fase analítica . . . . . .
7.2.3 Fase posanalítica. . . . . .
7.3 Procedimientos de seguridad . . . . . .

Apéndice. Precauciones universales para prevenir la transmisión sanguínea del VIH, el virus de la hepatitis B y otras infecciones en el ámbito de la atención de la salud 41

Glosario. 43

Referencias . . . . . ??

Lista de figuras, cuadros y recuadros:
Figura 2.1 Exámenes de detección del VIH anónimos no ligados. 10
Figura 2.2 Exámenes de detección del VIH confidenciales ligados y anónimos 12
Cuadro 4 Comparación de dos métodos de pruebas de detección del VIH: inmunovaloración enzimática (EIA) y pruebas rápidas. 28
Figura 4 Estrategias de detección del VIH recomendadas por ONUSIDA y la OMS 30
Figura 5 Selección de la prueba de detección del VIH. 33
Recuadro 1 Tres estados distintos de la epidemia 6
Recuadro 2 Exámenes del VIH ligados y no ligados 9
Recuadro 3 Resumen general de una evaluación nacional de las técnicas para los exámenes de detección del VIH 36

Pautas para aplicar las técnicas para los exámenes de detección del VIH a la vigilancia

A medida que la epidemia del VIH/SIDA impone al mundo una carga cada vez mayor, la vigilancia de la infección por VIH adquiere mayor urgencia, dado que es necesario entender las tendencias de la epidemia y tomar decisiones adecuadas para responder a ella. Esto es especialmente importante en los países en desarrollo, que se han visto desproporcionadamente afectados tanto por infecciones nuevas como antiguas. Con el fin de ayudar a los países a programar sus actividades de vigilancia según el estadio de la epidemia (bajo nivel, concentrada o generalizada), la OMS y el ONUSIDA han elaborado un marco conceptual para mejorar la vigilancia del VIH, conocido como vigilancia de segunda generación. Las pautas para la vigilancia de segunda generación proponen algunos métodos para mejorar el uso de los datos y expandir y mejorar así la respuesta a la epidemia del VIH. Dado que la vigilancia biológica (serológica) es un componente significativo de la mayoría de las actividades de vigilancia, es importante comprender claramente la tecnología de que se dispone actualmente para realizar las pruebas de detección del virus.

Estas pautas de laboratorio se refieren a los métodos para seleccionar, evaluar y aplicar la tecnología existente a las pruebas de detección del VIH. También presentan estrategias que se ajustan a la infraestructura nacional de laboratorios y las necesidades de vigilancia, siempre en el ámbito de la vigilancia de segunda generación. Incluyen asimismo recomendaciones para seleccionar, obtener, almacenar y analizar los especímenes así como para seleccionar y evaluar las estrategias y técnicas apropiadas para realizar los exámenes y cumplir con los objetivos de la vigilancia. También se analiza aspectos de garantía de calidad.

Estas pautas técnicas están dirigidas a coordinadores de la vigilancia del VIH y otros profesionales de la salud que participan en las pruebas de detección del VIH en relación con la vigilancia de la infección del VIH en los países en desarrollo. Asimismo, forman parte de una serie de guías operativas aplicadas a los sistemas de vigilancia de segunda generación.

1.0 Introducción

RESUMEN

Temas tratados en estas pautas

- Selección, obtención y almacenamiento de los especímenes y pruebas de detección del VIH
- Técnicas y estrategias relacionadas con las pruebas de detección del VIH
- Selección y evaluación de las técnicas relacionadas con las pruebas de detección del VIH
- Medidas de control de calidad

El Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el SIDA (ONUSIDA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomiendan el uso de la vigilancia del VIH de segunda generación para mejorar la recolección, el análisis y la utilización de datos indispensables para la gestión de los programas de prevención del SIDA. Otro objetivo de la vigilancia de segunda generación es ayudar a organizaciones nacionales e internacionales a monitorear la epidemia y guiar la respuesta a la misma (ONUSIDA/OMS 2000). Al utilizar los métodos propuestos por la vigilancia de segunda generación, los sistemas de vigilancia adquieren la flexibilidad necesaria para cambiar de acuerdo a las necesidades del país y el estadio de la epidemia, ya sea esta de bajo nivel, concentrada o generalizada (recuadro 1) (ONUSIDA/OMS 2000). A medida que en los países evolucionan o mejoran los programas de vigilancia con la incorporación de los principios de la vigilancia del VIH de segunda generación, los datos obtenidos cumplirán mejor con los propósitos planteados anteriormente.

Recuadro 1. Tres estados distintos de la epidemia

Epidemia de bajo nivel: es aquella que, a pesar de que lleva muchos años, nunca ha alcanzado un grado significativo de infección en ningún grupo de población en particular. (La prevalencia del VIH no ha superado 5%, de manera constante, en ningún grupo específico de población).

Epidemia concentrada: es aquella en que el VIH se ha difundido rápidamente en un grupo de población determinado, pero no así entre la población en general. (La prevalencia del VIH se ha mantenido constante, por encima del 5%, en por lo menos un grupo de población específico y es de menos de 1% entre las mujeres embarazadas de las zonas urbanas.

Epidemia generalizada: en este tipo de epidemia, el VIH se encuentra bien establecido entre la población en general. (La prevalencia del VIH se encuentra constantemente por encima del 1% entre las mujeres embarazadas).

La vigilancia de segunda generación utiliza la información obtenida por medio de la vigilancia biológica (o serológica), la del comportamiento y de otras fuentes (por ejemplo, la vigilancia de los casos de SIDA y VIH, de las infecciones de transmisión sexual [ITS] y los registros de mortalidad). Con estos datos se aumenta el conocimiento de la situación epidemiológica y se permite programar una respuesta más eficaz.

La vigilancia serológica se utiliza para hacer estimaciones de tasas de prevalencia de la infección por VIH y su distribución geográfica, seguir las tendencias a lo largo del tiempo en grupos específicos de población y determinar qué grupos tienen un riesgo mayor de contraer la infección. A su vez, esta información se utiliza en los países para apoyar el establecimiento de políticas y prioridades, planificar y evaluar programas de prevención, y caracterizar la eficacia de la respuesta de los países a la epidemia.

La vigilancia biológica es el método principal para determinar las tasas de prevalencia de la infección por VIH, tanto en el ámbito local como en el nacional, por lo tanto, es indispensable que las pruebas de detección del VIH se hagan de manera exacta, si han de constituir la base de la vigilancia de segunda generación. El progreso alcanzado por la inmunología diagnóstica ha mejorado con creces las técnicas aplicadas a los exámenes de detección del VIH. Actualmente, las pruebas de inmunovaloración enzimática (EIA) son mucho más exactas que sus predecesoras; asimismo, las pruebas rápidas de generación más reciente, dan resultados similares a los de las EIA en menos de 45 minutos, requieren mínima experiencia y no necesitan equipo alguno. Estas pruebas rápidas han permitido llegar a hacer pruebas de detección del VIH para la vigilancia en lugares donde anteriormente no se podía llevar a cabo tal actividad, por ejemplo, donde los recursos de laboratorio son escasos. También facilitan el acceso a grupos de población a los cuales de otro modo el acceso era difícil, como las trabajadoras sexuales, que podrían no ser accesibles por medio de los servicios de salud.

En estas pautas se presenta el tipo de espécimen que habrá que obtener y cómo guardarlo y analizarlo. También se describen las estrategias recomendadas por la OMS para seleccionar los exámenes, según la tasa de prevalencia y la tecnología existente para realizar las pruebas de detección de la infección por VIH como parte de la vigilancia biológica. El documento también incluye información sobre las estrategias y técnicas aplicadas a los exámenes de diagnóstico, ya que estos a su vez pueden servir de insumo a la vigilancia. Asimismo, se resumen los métodos para seleccionar y evaluar la tecnología más apropiada para la fase de la epidemia que afecta a un país determinado y sus necesidades. Dada la importancia de obtener resultados precisos de la vigilancia biológica del VIH, las pautas tratan también el tema de las medidas de control de calidad. Finalmente, se incluye un glosario de la terminología utilizada en el documento. Estas pautas técnicas están dirigidas a las personas que coordinan la vigilancia del VIH y a otros profesionales de la salud que participan en actividades relacionadas con las pruebas de detección del VIH para la vigilancia de la infección en los países en desarrollo y forman parte de una serie de pautas operativas aplicadas a los sistemas de vigilancia del VIH de segunda generación.

2.0 Resumen de los aspectos relacionados con el uso los exámenes de detección del VIH para la vigilancia serológica de la infección

RESUMEN

Uso los exámenes de detección del VIH para la vigilancia serológica de la infección

- Objetivos de los exámenes de detección del VIH
  Vigilancia
  Diagnóstico
  Tamizaje de la sangre para transfusión
- Métodos utilizados en los exámenes de detección del VIH
  Exámenes no ligados (vinculados)
  Exámenes ligados (vinculados)
- Poblaciones estudiadas

Para aplicar estas pautas, es necesario tener claro el objetivo del examen de detección, los métodos que se aplican a tales exámenes en relación con la vigilancia serológica y los grupos de población a los que se hará la prueba.

2.1 Objetivos de los exámenes de detección del VIH

Los exámenes de detección del VIH pueden tener tres objetivos específicos: la vigilancia de la infección, su diagnóstico o el tamizaje para sangre para transfusión (ONUSIDA/OMS, 1998). En los países en desarrollo, gran parte de las pruebas de VIH relacionadas con la vigilancia se realiza en torno a estudios de seroprevalencia en grupos específicos de población, como son las mujeres que reciben atención prenatal, pacientes con ITS, trabajadoras sexuales o personas que se inyectan drogas. También puede obtenerse datos sobre la prevalencia de las pruebas de diagnóstico (como las que se hacen en lugares que dan consejería y hacen exámenes a quien los solicita voluntariamente) y del tamizaje de la sangre para transfusión (donantes de sangre), o del análisis de pruebas administradas a otros grupos de población, como reclutas del ejército. La información generada por las pruebas de diagnóstico, el tamizaje de sangre y la de otros grupos especiales de población no puede extrapolarse a la población general, ya que tienen sesgos inherentes a la selección de las poblaciones examinadas.

2.2 Métodos utilizados en los exámenes de detección del VIH

La selección del método para hacer el examen serológico de detección del VIH depende del medio en que se realiza la prueba, por ejemplo, el dado por las políticas nacionales, y según

el estadio de la epidemia que afecta al país, de los grupos de población seleccionados y los sitios donde se pueden tomar los exámenes. Las pruebas anónimas no ligadas sin consentimiento informado solo pueden hacerse como parte de los servicios de atención de la salud donde se obtenga sangre rutinariamente para propósitos no relacionados con el VIH, por lo general, detección de sífilis (Recuadro 2). En esos casos, dentro de lo posible, los exámenes deberán llevarse a cabo en lugares que tengan la capacidad de derivar a los clientes a servicios consejería y pruebas voluntarias de detección del VIH. Los exámenes ligados (confidenciales y anónimos), que se realizan con el debido consentimiento del paciente que previamente ha recibido información, constituyen el método de elección, si es que el espécimen se obtiene solo con el fin de someterlo a la prueba de detección del VIH. Este es, por ejemplo, el caso de la vigilancia del VIH entre grupos a los que no se puede llegar a través de los servicios de salud (poblaciones de difícil acceso, como son las que usan drogas inyectables, las trabajadoras sexuales y los hombres que tienen relaciones sexuales con hombres) (véase el Recuadro 2). Cuando los especímenes se obtienen exclusivamente con el fin de detectar VIH, también puede usarse el método anónimo no ligado, con consentimiento informado, siguiendo las políticas y normas nacionales pertinentes.

En los casos en que se requiera consentimiento informado del cliente (recuadro 2), este requisito debe cumplirse antes de analizar el espécimen para VIH y se seguirán las políticas y normas vigentes en el país. En esta situación el sesgo de participación es un elemento importante que debe tenerse en cuenta cuando se haga el análisis de la información.

Recuadro 2. Exámenes del VIH ligados y no ligados

Exámenes anónimos no ligados (sin consentimiento informado)
- Análisis de especímenes obtenidos con otros propósitos
- No se recoge información personal que pueda identificar al cliente ni nombres, no requiere consentimiento informado ni consejería
- Se asigna un código al espécimen

Exámenes anónimos no ligados (con consentimiento informado)
- Análisis de especímenes obtenidos exclusivamente con el propósito de hacer vigilancia
- Requiere consentimientob del paciente que previamente ha recibido la información debida
- No se recoge información personal ni nombres que identifiquen al cliente y no se requiere consejería
- Se asigna un código al espécimen

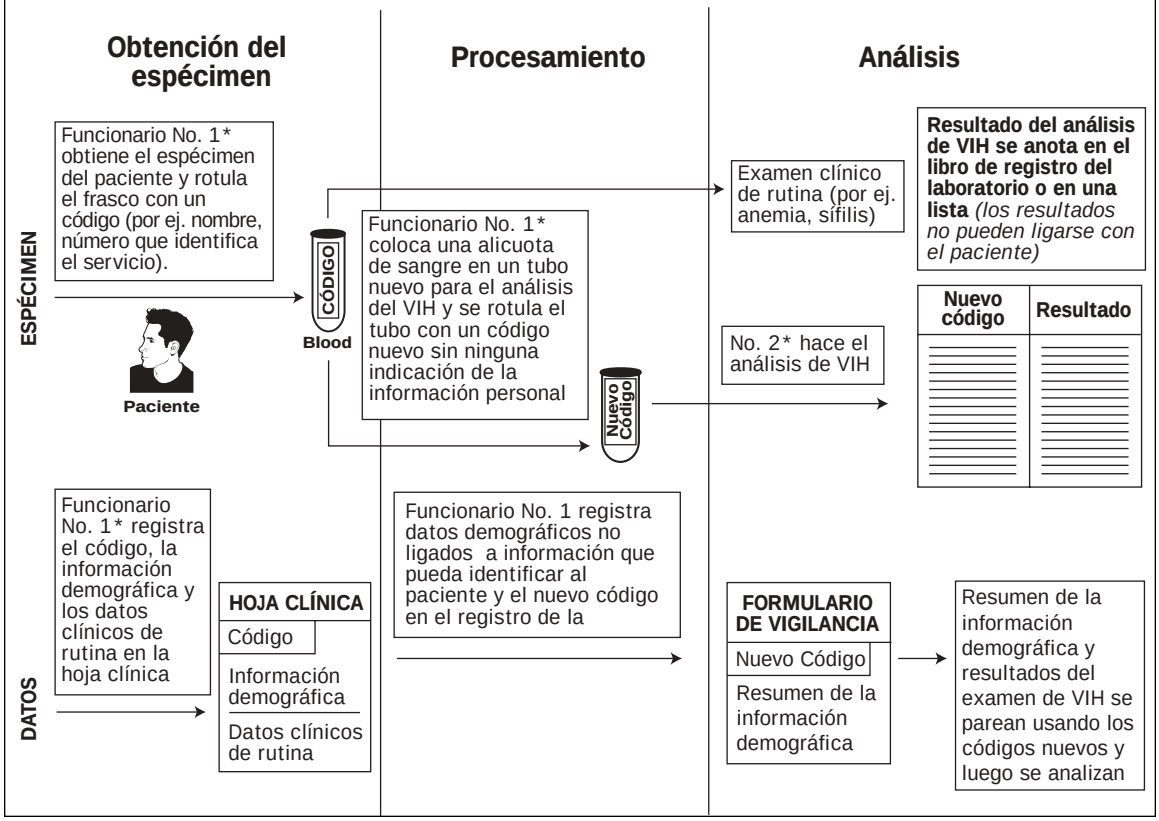
Exámenes confidenciales ligados (con consentimiento informado)
- Requiere consentimiento informado del paciente (véase nota al piea, anterior) y consejería antes y después del examen de detección
- Se recoge información personal o nombres
- Se asigna un código al espécimen, que se vincula con información personal del cliente

Exámenes anónimos ligados (con consentimiento informado)
- Requiere consentimiento informado del paciente (véase nota al pieb, anterior) y consejería antes y después del examen de detección
- No se utiliza información que pueda identificar al cliente ni nombres
- Se asigna un código al espécimen, que se le proporciona al paciente para que él o ella únicamente pueda obtener los resultados

Habrá que asignar un código a cada muestra que se someta a examen de VIH. Tal código, único, identifica cada muestra durante todo el proceso de análisis y puede servir para relacionarlo con información personal del cliente (nombre, número de identificación del servicio de salud) cuando corresponda o no, según se trate de pruebas ligadas o no ligadas. El código también puede vincularse con información demográfica (edad, sexo, estado civil, lugar de residencia) ya sea que se trate de exámenes ligados o no ligados, y con información sobre comportamientos de riesgo (solo en los exámenes no ligados). Esa información se recoge en el momento en que se obtiene la muestra.

Las pruebas anónimas no ligadas (Figura 2.1) sin consentimiento informado se llevan a cabo exclusivamente en el ámbito de la atención clínica, cuando se obtienen muestras de sangre con otros fines, por ejemplo, detección de sífilis como parte de la atención prenatal. La muestra se somete al examen de VIH después de haber eliminado toda información que pueda identificar su origen. Así, los resultados del análisis no pueden vincularse con el paciente que dio la sangre y, en consecuencia, la persona no puede recibir el resultado del examen.

Figura 2.1 Exámenes de detección del VIH anónimos no ligados



*Con el fin de garantizar el anonimato del paciente, los funcionarios No. 1 y 2 deberían ser personas diferentes.

Para mantener la información del paciente anónima tanto en la clínica como en el laboratorio, un funcionario obtendrá el espécimen y otro lo analizará. Un miembro del personal (clínico o

del laboratorio) obtendrá la muestra y la procesará para los análisis de rutina y para el examen anónimo no ligado del VIH. Para realizar este último se necesita trasladar una alicuota de sangre a otro tubo, al que se le pondrá una etiqueta con un código nuevo que no permita ligarlo a información personal del cliente. Otro miembro del personal hará el examen de VIH.

En algunos servicios el mismo funcionario (técnico de laboratorio) tiene la responsabilidad de sacar la muestra y realizar la prueba de detección del VIH en forma anónima y no ligada. En estos casos, se recomienda que otra persona procese el espécimen para la prueba anónima no ligada (por ejemplo, que traslade una alicuota a un tubo limpio rotulado con el código nuevo, como se señala en el párrafo anterior).

En el momento en que se obtiene la muestra del paciente, un miembro del personal solicita información demográfica, como edad, sexo, estado civil y lugar de residencia, y toma la historia médica del paciente. La información se registra en el formulario clínico junto con el código del espécimen (que incluye, por ejemplo, nombre y número de identificación del establecimiento de salud). Una vez procesado el espécimen para la prueba anónima no ligada y asignado un nuevo código a la alicuota correspondiente, la misma persona anota el nuevo código en el registro de vigilancia, en el que también agrega la información demográfica necesaria (por ejemplo, edad, sexo y estado civil). Así, esta información no puede relacionarse con ningún dato personal del paciente, y no puede ser identificado. Los resultados de las pruebas anónimas no ligadas sí pueden relacionarse con la información demográfica, que se recupera para el análisis con el nuevo código. Es importante mantener el carácter anónimo del espécimen, por lo cual la información demográfica que se recoja no debe ser tanta que permita identificar al paciente de origen.

En los lugares donde no se saca sangre a los pacientes para otro propósito de manera rutinaria, se considera que los exámenes anónimos no ligados sin consentimiento informado no son éticos. En consecuencia, en tales situaciones se debe ofrecer el examen de detección de carácter ligado y acceso gratuito a la consejería y pruebas voluntarias o, si las políticas nacionales lo permiten, pruebas anónimas no ligadas con consentimiento informado.

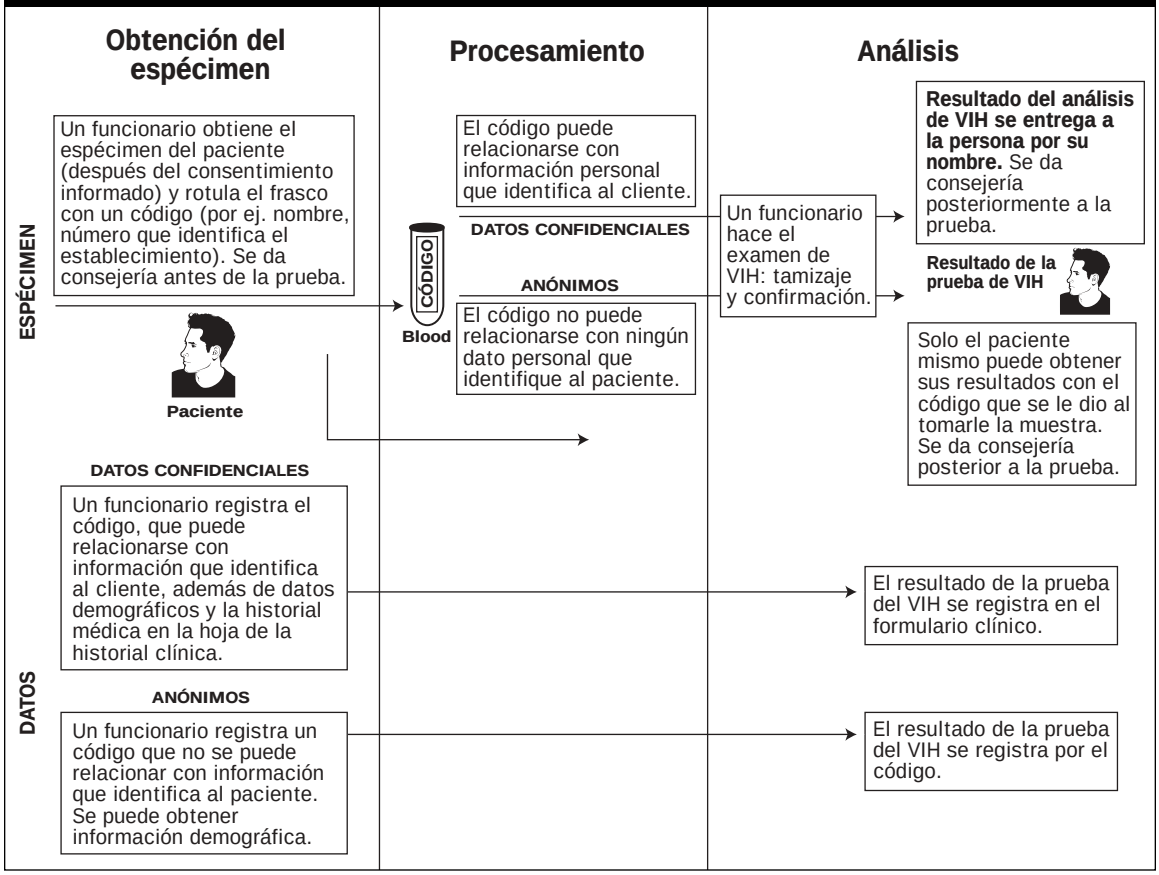
En los exámenes anónimos no ligados con consentimiento informado, se le pregunta a los participantes si están de acuerdo en participar en un estudio de vigilancia de VIH. También se les indica que los resultados de la prueba de VIH que se les realizará no estarán ligados y que quitará toda identificación personal de la muestra. Por lo tanto, no será posible seguir que participantes tiene resultados positivos. A los participantes se les debe ofrecer acceso gratuito a la prueba y consejería. Los personas pueden optar por no participar en el estudio, y por lo tanto introducir un posible sesgo de participación.

Cuando se realizan exámenes ligados (Figura 2.2), los resultados de la prueba de detección del VIH se vinculan con el paciente en cuestión, lo cual le permite a este recibir sus propios resultados. Cuando se utiliza este método es necesario obtener consentimiento informado del paciente y dar consejería antes y después del examen de detección. Los exámenes ligados pueden hacerse en los servicios de salud o fuera de ellos y pueden ser confidenciales o anónimos. En vista de que el paciente en este caso puede optar por recibir sus resultados, este tipo de examen requiere una prueba de confirmación adicional.

En los exámenes confidenciales ligados, el cliente accede a hacerse la prueba de detección del VIH bajo la garantía de que sus resultados se mantendrán confidenciales y sólo algunos miembros específicos del personal de salud tendrán acceso a ellos. En este tipo de examen, un trabajador de la salud obtiene el consentimiento informado y da la consejería antes de obtener el espécimen para el examen. Luego se rotula el espécimen con un código que puede relacionarse con la información personal del paciente (nombre, número del establecimiento de salud). Una vez se realiza la prueba confidencial, los resultados se entregan a la persona durante la consejería posterior al examen.

En los exámenes anónimos ligados, el cliente accede a hacerse un examen de detección del VIH. El método para obtener la muestra y procesarla es el mismo que en las pruebas confidenciales ligadas. No obstante, el espécimen recibe un código que no puede relacionarse con información que identifica su origen y solo el paciente puede tomar esta acción para obtener sus resultados.

Figura 2.2 Exámenes de detección del VIH confidenciales ligados y anónimos



*Con el fin de garantizar el anonimato del paciente, los funcionarios No. 1 y 2 deberían ser personas diferentes.

2.3 Poblaciones estudiadas

El estadio de la epidemia es el que determina qué grupos de población son los que se ha de investigar. En los países con epidemias generalizadas, la vigilancia serológica se lleva a cabo principalmente entre las mujeres embarazadas que reciben atención prenatal, y es la base de sus sistemas de vigilancia. Este tipo de vigilancia se realiza en clínicas o servicios grandes, consulta externa de hospitales o centros de salud. Por otra parte, en los países con epidemias concentradas o de bajo nivel, la vigilancia se dirige principalmente a poblaciones específicas entre las cuales se percibe un riesgo más alto de contraer la infección por VIH, como son las trabajadoras sexuales y sus clientes, los usuarios de drogas inyectables o los hombres que tienen relaciones sexuales con hombres. Por lo tanto, se seleccionan para la vigilancia centinela los lugares adonde acuden estas personas, por ejemplo, clínicas que atienden infecciones de transmisión sexual o de tratamiento de drogadicción, instituciones carcelarias, prostíbulos, bares y clubes nocturnos. Otras poblaciones que se recomienda estudiar son reclutas del ejército o conscriptos militares, y grupos laborales que pueden tener un riesgo más elevado de infección por VIH, como son obreros de fábrica, mineros o trabajadores migratorios. Las tasas de prevalencia que se encuentren solo deberán aplicarse a los mismos grupos estudiados y no a la población en general.

RECOMENDACION

- Donde la epidemia sea generalizada, se recomienda llevar a cabo la vigilancia centinela por serología en los servicios de atención prenatal.
- En los casos de epidemias concentradas o de bajo nivel, el sistema de vigilancia deberá concentrarse en grupos específicos de población que se perciben como de riesgo más alto, por ejemplo, trabajadoras sexuales y sus clientes, usuarios de drogas inyectables y hombres que tienen relaciones sexuales con hombres.

Un tratamiento más detallado de los métodos de selección de grupos de población, las muestras correspondientes y los sitios donde llevar a cabo la vigilancia del VIH supera el propósito de este documento.

2.4 Medición de la incidencia del VIH

Modificaciones recientes a un tipo de prueba de VIH denominada "detuned assay" o Algoritmos para Pruebas Estandarizados en Casos de Seroconversión Reciente (APECS o STARHS, del inglés Standardized Testing Algorighm for Recent HIV Seroconversion). Si bien no se ha aprobado el uso de esta prueba en ningún país, excepto como parte de proyectos de investigación, aquí se describe brevemente debido a que se sigue estudiando su aplicación en el terreno para la vigilancia.

El uso de APECS permite determinar si la infección por VIH de una persona es reciente. Específicamente, indica si la persona ha sufrido una conversión serológica (producción de anticuerpos al VIH) en un plazo promedio de 130 días antes del examen propiamente tal (Janssen et al. 1998). La capacidad de distinguir las infecciones recientes de las más antiguas permite estimar la incidencia de infecciones recientes, lo cual es sumamente valioso para evaluar las tendencias recientes de la infección por VIH.

3.0 Especímenes utilizados para los exámenes de detección del VIH

RESUMEN

Especímenes utilizados para los exámenes de detección del VIH

- Selección del espécimen
  Ventajas y desventajas relacionadas con el uso de sangre completa, suero y plasma
  Ventajas y desventajas relacionadas con el uso de orina o secreciones orales
- Obtención, procesamiento y almacenamiento de las muestras de sangre
- Obtención y almacenamiento de orina y secreciones orales
- Rotulación y registro de los especímenes

Es posible usar varios tipos de especímenes con las técnicas utilizadas para las pruebas de VIH para la vigilancia biológica, entre ellos, sangre completa, plasma, suero, secreciones orales y orina. La selección del tipo de espécimen depende de aspectos logísticos, de la población y sitios seleccionados, y de la estrategia que se use para las pruebas del VIH. Las muestras deben obtenerse, analizarse y almacenarse de manera apropiada, con el fin de obtener resultados exactos y fiables.

En el caso de la vigilancia serológica, normalmente los especímenes se obtienen y se guardan para luego ser analizados en un laboratorio regional o nacional. Las muestras de suero, plasma y sangre seca pueden guardarse para ser analizadas en el futuro; en tal caso, la forma de guardarlas dependerá del tipo de espécimen de que se trate.

Las muestras que no se analicen localmente, en su lugar de origen, deberán transportarse a un laboratorio regional o nacional para ese efecto. Los métodos de transporte varían según la infraestructura del país. Es posible que solo en pocos países haya sistemas de mensajero que puedan ir de los establecimientos de salud a los laboratorios y viceversa. Lo más corriente es que el personal de terreno lleve las muestras del servicio de salud al laboratorio nacional.

3.1 Selección del espécimen

3.1.1 Ventajas y desventajas de usar sangre completa, suero y plasma

Se puede obtener sangre, suero y plasma por punción venosa o al pinchar la yema de los dedos (véase el párrafo 3.2). A continuación se analizan las ventajas e inconvenientes de estos especímenes en relación con las pruebas de VIH.

Ventajas

- Su concentración de anticuerpos al VIH es más alta que la que se encuentra en orina o secreciones orales (Rose et al. 1997).
- Potencialmente, con la misma muestra se puede hacer otros análisis, por ejemplo, para sífilis, hepatitis B y C.
- Es posible realizar estudios especiales, por ejemplo para tipificación de VIH (VIH-1 y VIH-2).
- Se pueden obtener y analizar fácilmente en los establecimientos de salud que cuentan con un laboratorio y un técnico flebotomiano especializado.
- Las muestras se pueden obtener fácilmente fuera de los establecimientos de salud (sangre completa por pinchazo dactilar).

Desventajas

- La técnica para obtener la muestra es invasiva.
- Se requiere contar con un técnico capaz (para obtener y procesar suero o plasma).
- Requiere más equipo que las muestras de sangre y secreciones orales (agujas, tubos, lancetas) además de la posibilidad de descartar productos biológicos peligrosos.
- Es difícil obtener muestras de suero o plasma por punción venosa fuera del ámbito clínico.
- Dado que los productos de la sangre contienen mayores concentraciones de virus y que para obtener la muestra se usan objetos punzantes, tales muestras presentan un riesgo mayor para el personal de salud que las secreciones orales.

3.1.2 Ventajas y desventajas de las muestras de orina y las secreciones orales

Aparte de sangre y productos sanguíneos, hay otros especímenes que se prestan para las pruebas de detección del VIH, como las secreciones orales para las pruebas ligadas que requieren consentimiento informado. La orina es otro producto, el único además de la sangre, que se obtiene para análisis de rutina en algunos servicios de atención de la salud donde se realizan pruebas anónimas no ligadas.

Ventajas

- No es necesario contar con técnicos capacitados para obtener y procesar las muestras.
- Se evita el contacto con materiales de laboratorio potencialmente contaminados, como agujas o jeringas, que deben descartarse como productos biológicos peligrosos.
- Las secreciones orales pueden obtenerse en una variedad de situaciones, incluso fuera de los servicios clínicos de atención de la salud.
- Es posible que sea más aceptable entre los grupos de difícil acceso obtener muestras de secreciones orales que los especímenes que requieren punción venosa o digital, por lo tanto, una mayor proporción de la población blanco podría consentir a la prueba.

Desventajas

- Las pruebas inmunitarias enzimáticas son menos sensibles y específicas que las que utilizan sangre (Martínez et al. 1999).

- Las muestras de orina deben analizarse en el laboratorio (EIA); actualmente no se dispone de pruebas rápidas para la orina.
- Podría ser necesario contar con equipo especial para obtener secreciones orales.
- La tecnología para hacer estas pruebas actualmente es limitada.
- Probablemente sean más caras que las pruebas que utilizan suero o plasma.
- Podría requerirse una segunda muestra (de sangre, por ejemplo) de confirmación.
- No sirve para realizar otros análisis relacionados con estudios especiales (por ejemplo, VIH-1 o VIH-2, subtipificación, resistencia antirretroviral).

RECOMENDACION

Para los exámenes de VIH es preferible utilizar sangre (completa, suero o plasma) porque su concentración de anticuerpos de VIH es más alta que la de orina o secreciones orales. Con la sangre también se pueden hacer otros análisis, por ejemplo, de sífilis, hepatitis B y C, y estudios especiales de tipificación y subtipificación del VIH y de resistencia antirretroviral.

3.2 Obtención, procesamiento y almacenamiento de las muestras de sangre

3.2.1 Sangre completa, suero y plasma

La sangre que se utiliza para la prueba del VIH puede obtenerse por punción venosa (sangre completa, suero o plasma) o por punción dactilar (sangre completa).

3.2.1.1 Procesamiento de sangre obtenida por punción venosa

Para extraer sangre por punción venosa, se seguirán los procedimientos clínicos o de laboratorio. En el Apéndice y en la Sección 6.3 se explican los procedimientos de seguridad.

Se recomienda seguir los pasos siguientes en el procesamiento de la sangre obtenida por punción venosa (Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos [NCCLS] 1998):

1. Extraer un máximo de 10 ml de sangre de la vena del paciente y recogerla en un tubo estéril de 10 ml. Cuando se trata de *muestra de suero*, se utiliza el frasco de tapa roja (sin anticoagulantes). Para las *muestras de plasma* se utiliza el frasco de tapa morada (con anticoagulantes, por ejemplo, EDTA).

   Por seguridad, se recomienda usar un sistema de recolección de sangre evacuada (por ejemplo, tubo Vacutainer‰) (Nota: se considera falto de ética y, por lo tanto, no se recomienda, que durante la extracción de sangre de rutina se saque un tubo extra de sangre con el propósito exclusivo de hacer pruebas anónimas no ligadas).

En los casos en que no se pueda procesar el espécimen sanguíneo inmediatamente (por ejemplo, porque no se dispone de centrífuga), la sangre se colocará en un tubo de tapa morada con EDTA. Se dejará reposar por unos 20 a 30 minutos; luego, se sacará el plasma cuidadosamente con una pipeta de modo que no se saquen muchos glóbulos rojos. Se procesará (véase el paso 3) y analizará en un plazo de 24 horas para evitar la hemólisis del espécimen. En este momento, también se puede preparar una muestra de sangre seca con sangre anticoagulada.

2. El espécimen se centrifugará para separar el suero (sin EDTA) o plasma (con EDTA). Si se desea obtener suero, se dejará reposar la sangre por lo menos 20 a 30 minutos, de modo que se forme un coagulo antes de centrifugar. En general, la muestra de sangre se centrifugará a 300 a 400 g o 1200 a 1500 rpm por 10 minutos, por lo menos (Lennette et al. 1985).

3. Una vez centrifugado el espécimen o después que ha tenido tiempo de separarse, se usará una pipeta limpia (no se debe verter) para sacar una alicuota de 0,5 ml a 2,0 ml de la capa superior. Esta se transfiere a un tubo estéril (plástico, no de vidrio) con etiqueta o a un criovial (1,5 a 2,0 ml con tapa atornillada) y se cierra bien. La muestra está ahora lista para guardar y analizar.

3.2.1.2 Almacenamiento de sangre y plasma obtenidos por punción venosa

Al guardar suero y plasma habrá que seguir las siguientes recomendaciones (NCCLS 1990):

- Verificar que la tapa del tubo plástico o del criovial está bien cerrada. (No deberá usarse tubo de vidrio para guardar estos especímenes.) Los crioviales se colocarán en una caja de cartón para congelador que tenga una separación.
- Si las muestras se transportarán al laboratorio para su análisis, habrá que empacar la caja de manera vertical en una heladera con paquetes de frío para lograr una temperatura de 4°C. Si no se dispone de paquetes de frío, las muestras de suero podrán permanecer a temperatura ambiente por un máximo de 3 días. Pasado los 3 días, podría haber crecimiento bacteriano y dañarse la muestra.
- Cuando los especímenes no se puedan enviar antes de 3 días al laboratorio que los analizará, habrá que congelar las muestras a –20°C en un congelador que no forme escarcha. Para almacenar los especímenes por plazos más largos, deberán congelarse a –70°C en un congelador del tipo ya mencionado.
- El número de ciclos de congelación/descongelación deberá ser de no más de 5, ya que las descongelaciones múltiples afectarán el nivel de anticuerpos y, por lo tanto, el resultado del análisis.

3.2.1.3 Obtención de sangre por punción digital

La sangre que se obtenga por punción digital sirve para realizar una prueba rápida o preparar una gota de sangre seca en papel de filtro. El método de gota de sangre seca puede ser preferible en el ámbito rural o fuera del ambiente clínico, donde a menudo no se cuenta con un técnico flebotomiano ni instalaciones de laboratorio con el equipo necesario, como centrífugas.

1. Para obtener un espécimen de sangre dactilar, habrá que dar masajes al dedo (de preferencia el anular o el del medio) para que se acumule sangre en la punta.

2. Se limpiará la yema del dedo (no la punta ni el costado) con alcohol isopropílico (alcohol de fricción) al 70%. Se secará el dedo con un trozo de gasa estéril.

3. Se usará una lanceta estéril para pinchar la yema del dedo. Se limpia la primera gota de sangre con una gasa estéril y se recoge la siguiente, que se coloca en el equipo de la prueba rápida o en papel filtro para preparar la gota de sangre seca. Si la primera punción no sirve, no deberá pincharse nuevamente el mismo sitio, sino otra parte del mismo dedo u otro dedo. Se evitará apretar el sitio de la punción para sacar más sangre, dado que esto puede causar hemólisis del espécimen y afectar el resultado de la prueba (NCCLS 1999). También puede pincharse el lóbulo de la oreja en vez de un dedo.

3.2.1.4 Preparación y almacenamiento de gota de sangre seca para la prueba del VIH

La sangre obtenida por punción digital o del lóbulo de la oreja puede usarse para preparar la gota de sangre seca (George et al. 1989). Si bien el método típico es de punción digital, las gotas de sangre seca también pueden formarse con sangre que se haya obtenido de un tubo con anticoagulante (NCCLS 1997). Las gotas de sangre seca tienen la ventaja de poderse transportar con facilidad y sin necesidad de contar con cadena de frío. Habrá que seguir los siguientes pasos:

1. Aplique, en papel de filtro especial, la sangre sacada directamente del dedo o de una pipeta (Papel de filtro 903 de Schleicher y Schuell o papel 180 de Whatman BFC). El papel podría venir ya con círculos impresos que llenos pueden contener aproximadamente 100 mL de sangre. Si el papel no viene con círculos impresos, se coloca la sangre en el papel de modo que forme un círculo de 1,5 cm de diámetro. Se deja que la sangre empape el papel y llene completamente el círculo. Ojo: si la sangre no satura el papel de filtro, ese papel no deberá usarse.

2. Una vez que el papel de filtro esté saturado de sangre (el círculo se llenó), ponga un código en el costado del mismo.

3. Cuelgue a secar las tiras de papel de filtro con el círculo de sangre de modo que el aire circule alrededor del papel. En el comercio existen estantes especiales para colocar las tiras de papel. Sin embargo, las últimas también pueden secarse si se colocan entre dos libros, pegadas de las puntas con cinta adhesiva, o en la mesa del laboratorio, siempre y cuando la superficie que contiene la sangre no entre en contacto con la superficie de la mesa. Habrá que cerciorarse de que la cinta adhesiva no toque la mancha de sangre.

4. Déjense secar las gotas de sangre al aire a temperatura ambiente por 4 horas por lo menos (24 horas en climas húmedos). Estas manchas de sangre no deberán calentarse, ponerse una sobre otra ni dejar que toquen otras superficies mientras se secan.

5. Una vez que las manchas de sangre se han secado bien, la tira de papel se envuelve en una hoja de papel cristal o de plástico para evitar que se contamine una mancha con otra.

6. Colóquense las tiras envueltas en una bolsa impermeable al gas con desecante y tarjetas que indiquen la humedad. Cada bolsa puede llevar hasta 20 tiras de papel. Se pueden dejar a temperatura ambiente por un período máximo de 30 días y luego guardar a 4 °C por un plazo de 90 días. Si las gotas de sangre seca en las bolsas de plástico se han de guardar por más de 90 días, deberán mantenerse a –20 °C (George et al. 1989). Se ha demostrado que, si la sangre seca se guarda bien, se conserva estable por 2 años, por lo menos. Las bolsas deben colocarse en un sobre grueso para su envío (Knudsen et al. 1993).

3.3 Obtención y almacenamiento de orina y secreciones orales

3.3.1 Obtención de orina y secreciones orales

Para obtener la muestra deberán seguirse las instrucciones de las pruebas y las normas aplicables a los procedimientos de laboratorio locales. Véase en la sección 6.3 la información sobre procedimientos de seguridad.

3.3.1.1 Orina

Hay una variedad de protocolos para la inmunovaloración enzimática de muestras de orina. No obstante, no se dispone actualmente de pruebas rápidas para especímenes urinarios.

A continuación se presentan algunas consideraciones importantes con respecto a la obtención de muestras de orina:

- Se necesita normalmente un mínimo de 200mL de orina para realizar una prueba de inmunovaloración enzimática.
- La muestra puede obtenerse a cualquier hora del día y en cualquier momento del flujo urinario.
- Puede agregársele una substancia que preserve la orina para guardarla, pero esto no es un requisito.

3.3.1.2 Secreciones orales

Las secreciones orales pueden analizarse tanto con inmunovaloración enzimática modificada como con las pruebas rápidas. Estas últimas se encuentran actualmente en fase de evaluación en el terreno.

A continuación figuran los pasos necesarios para obtener muestras de secreciones orales:

1. Úsese una almohadilla tratada especialmente y adherida a un sostén de plástico (este último normalmente es parte del producto provisto por el fabricante).

2. Colóquese la almohadilla en la boca del paciente, contra la cara interna de la mejilla, por el tiempo que indiquen las instrucciones del fabricante. A continuación ponga la almohadilla en un tubo con solución preservativa (normalmente provista también por el fabricante de la prueba).

Dada la complejidad de este tipo de análisis, las muestras de secreciones orales deberán enviarse a un laboratorio nacional para realizar la prueba de EIA.

3.3.2 Almacenamiento de orina y secreciones orales

Las muestras de orina deberán colocarse en crioviales con una substancia que las preserve, y pueden guardarse por un plazo de 1 año, máximo, a una temperatura de 4 °C a 8 °C. Las muestras de orina no deben congelarse para el examen de VIH.

Las muestras de secreciones orales se pueden guardar a temperaturas de 4 °C a 37 °C por un máximo de 21 días (incluido el tiempo que toma el traslado y el análisis). Las muestras de secreciones orales deberán refrigerarse durante el traslado. Se pueden congelar los especímenes (-20 °C) por un período corto (aproximadamente 6 semanas). Una vez que se descongelan pueden volverse a congelar una vez más. Habrá que consultar las instrucciones que vienen con la prueba antes de realizarla con el fin de obtener información más específica sobre las condiciones de almacenamiento.

3.4 Rotulación y registro de los especímenes

3.4.1 Rotulación de los especímenes

Es necesario rotular con un código el tubo plástico, criovial o papel de filtro con la muestra al momento de obtenerla y procesarla. Si para ese efecto se usa una etiqueta, habrá que tener cuidado de ponerla sobre la pared del tubo y no en la tapa. Para los crioviales habrá que usar etiquetas impresas diseñadas especialmente para adherirse al tubo durante el almacenamiento en congelador. Los coordinadores de la vigilancia deberán dar al personal de campo que obtiene las muestras una serie de etiquetas o marcadores permanentes, además de los códigos que deberán usar.
Cuando se esté haciendo vigilancia con pruebas anónimas no ligadas, el tubo sólo se rotulará con un código no ligado al nombre de la persona a quien pertenece la muestra (véase la figura 2.1).

3.4.2 Registro de los especímenes

Habrá que mantener un libro de registro de laboratorio o listado separado para la vigilancia en el cual se anotarán los resultados de las pruebas de VIH con su código respectivo. El libro de registro deberá poder verlo solo el personal de laboratorio o quien esté a cargo de la vigi-

lancia y, mientras no esté en uso, deberá mantenerse guardado bajo llave para garantizar el carácter confidencial de los resultados de las pruebas y de su participación en las actividades relacionadas con la vigilancia (véanse las figuras 2.1 y 2.2).

En el caso de las pruebas anónimas no ligadas, solo se anotará en el libro de registro o listado el código nuevo y el resultado de la prueba de VIH. No se registrará información personal alguna sobre los pacientes que dieron la muestra. Los resultados de la prueba del VIH se relacionan con los datos demográficos obtenidos en el formulario de vigilancia por medio del nuevo código. (Véase la figura 2.1.)

4.0 Técnicas y estrategias actuales de detección del VIH aplicadas a la vigilancia

RESUMEN

Técnicas y estrategias actuales de detección

- Técnicas para la detección (inmunovaloración enzimática y pruebas rápidas)
  Características y aplicaciones de los exámenes
  Pasos generales para realizar el examen
- Estrategias I, II y III de ONUSIDA y la OMS para realizar los exámenes

4.1 Técnicas para la detección del VIH

4.1.1 Resumen de los aspectos relacionados con los exámenes de detección del VIH

Las técnicas relacionadas con los exámenes de detección del VIH actualmente pueden identificar:

- Anticuerpos al VIH (por ejemplo, inmunovaloración enzimática, pruebas rápidas, Western Blot, prueba de inmunofluorescencia, aglutinación de partículas)
- Antígenos específicos del VIH (por ejemplo, inmunovaloración enzimática, prueba de antígeno)
- Ácido nucleico viral del VIH (por ejemplo, por reacción en cadena de polimerasa u otra técnica)
- VIH (por cultivo viral)

En los países en desarrollo, ya sea para la vigilancia o el diagnóstico, los métodos de determinación del antígeno, el ácido nucleico viral o el VIH propiamente son caros, más difíciles de realizar desde el punto de vista técnico y a menudo más propensos a errores de laboratorio. Por otra parte, en la mayoría de los países industrializados, el diagnóstico se realiza actualmente por medio de una prueba de EIA para la detección o el tamizaje, y en caso de reacción positiva, el resultado se confirma con un examen de Western Blot. No obstante, se ha demostrado en algunos estudios que las pruebas de inmunovaloración enzimática y las pruebas rápidas de última generación dan una confirmación tan fiables como el examen de Western Blot. Comparados con este último, los EIA y las pruebas rápidas son más baratos, no requieren un alto nivel de pericia técnica para realizar o interpretar la prueba y producen menor número de resultados indeterminados (Tam 1999; Stetler et al. 1997). Por ello, el ONUSIDA y la OMS recomiendan estrategias de tamizaje alternativas utilizan combinaciones de EIA o pruebas rápidas para confirmar un resultado positivo inicial (ONUSIDA 1997). La primera prueba (de tamizaje) debería ser de alta sensibilidad de manera que detecte de manera

fidedigna los anticuerpos en la muestra. La segunda pruebas (confirmatoria) debería ser altamente específica para confirmar que la muestra contenga verdaderamente anticuerpos específicos para el VIH (ONUSIDA/OMS 1999).

La mayoría de las EIA y pruebas rápidas contienen antígenos contra el VIH-1 y el VIH-2 por lo que pueden detectar anticuerpos para los dos tipos de VIH. Sin embargo, la mayoría de las pruebas no distinguen entre el VIH-1 y el VIH-2. Estas pruebas se recomiendan con fines diagnósticos y de vigilancia porque son más precisas y costo-eficientes. Las cuatro categorías definidas por el ONUSIDA y la OMS según el grado de complejidad de las pruebas de detección de anticuerpos al VIH son: 1) No requiere equipo ni experiencia de laboratorio adicional; 2) Requiere que se preparen los reactivos o un proceso de varios pasos; 3) Requiere cierta capacidad específica, por ejemplo, para hacer la dilución, y 4) Requiere equipo y técnicos de laboratorio capacitados (ONUSIDA/OMS 1998).

RECOMENDACION

Entre todas las tecnologías disponibles, las EIA y las pruebas rápidas son las más precisas y costo-eficientes tanto para vigilancia como para diagnóstico

4.1.2 Inmunovaloración enzimática (EIA)

4.1.2.1 Descripción general

Este tipo de prueba funciona por la interacción primaria de antígeno y anticuerpo y utiliza lisado viral completo de VIH o uno o más antígenos del virus. Las primeras EIA daban un mayor número de resultados falsos positivos que las pruebas actuales, de tercera generación (Tam 1999). Las preparaciones de antígeno en las versiones más antiguas de la prueba tenían más reacciones cruzadas con componentes de la célula huésped (líneas celulares de linfocitos humanos utilizadas para cultivar el virus). Por lo tanto, era necesario confirmar los resultados positivos de la inmunovaloración enzimática con una prueba de Western Blot. No obstante, las EIA de segunda y tercera generación han mejorado sensiblemente en cuanto a especificidad y sensibilidad, por lo cual han pasado a ser buenas opciones como pruebas de confirmación. El uso de proteínas recombinantes y péptidos sintéticos también mejoró la sensibilidad al reducir el período no reactivo que sigue a la infección inicial con el VIH y permitió así detectar tempranamente la infección (ONUSIDA/OMS 1999). La mayoría de las EIA para VIH contiene antígenos de VIH-1 y VIH-2; asimismo, la prueba se ha perfeccionado para detectar los anticuerpos a ambos virus (Tam 1999; ONUSIDA/OMS 1999).

4.1.2.2 Características de la inmunovaloración enzimática

El uso de las EIA da mejores resultados en los laboratorios regionales o nacionales, ya que requiere contar con técnicos de laboratorio bien adiestrados y capaces y equipo tecnológico de avanzada (incubadoras, lavadoras y espectrofotómetros) que requiere mantenimiento y

energía eléctrica sin interrupción. El uso más eficiente de este tipo de prueba se da en los laboratorios que procesan un gran número de muestras diariamente (100 o más) o cuando las muestras se procesan en lotes, situación bastante común en la vigilancia centinela. El diseño mismo de la prueba hace que no sea un buen método para procesar unos pocos especímenes, ya que en esos casos el costo en relación con la eficacia es demasiado alto. No obstante, si un laboratorio procesa corrientemente un mínimo de 50 muestras diarias, las EIA podrían presentar ventajas sobre las pruebas rápidas. A menudo los laboratorios acumulan las muestras para procesarlas en lotes, todas al mismo tiempo, con lo cual los resultados se retrasan algunos días o incluso 2 o 3 semanas. Si bien este retraso podría constituir un problema cuando se trata de pruebas de diagnóstico, no es así en relación con las pruebas anónimas no ligadas, porque el paciente no espera recibirá los resultados de su prueba. De hecho, un resultado que se obtiene el mismo día en que se obtuvo la muestra podría facilitar la identificación de la persona que la proporcionó. Por lo general, la inmunovaloración enzimática se lleva a cabo en laboratorios regionales o nacionales (véase la sección 6.0) con lo cual se facilita el establecimiento de sistemas de garantía de calidad y medidas de control de calidad, puesto que solo se instaurará en unos pocos laboratorios (véase la sección 6.0). El uso de este tipo de prueba será muy limitado en el medio rural, ya que la infraestructura de laboratorios y la disponibilidad de equipos probablemente sea insuficiente en esos lugares (Cuadro)

El costo de un análisis por EIA varía de US$1 a $2. Si se suman los costos directos e indirectos (tecnología, personal y equipo), el costo real podría superar los $15 ó $20 por prueba (Brown y Burke 1995). No obstante, si los costos directos e indirectos se sufragan entre varios programas (tamizaje de sangre, diagnóstico y vigilancia), la parte correspondiente a la vigilancia podría reducirse a alrededor de $4 a $6.

RECOMENDACION

Las pruebas de inmunovaloración enzimática son eficientes cuando se llevan a cabo en laboratorios que procesan diariamente un número grande de muestras, que es normalmente el caso cuando se realiza vigilancia centinela de la infección por VIH.

4.1.2.3 Cómo se realiza la inmunovaloración enzimática

Estas pruebas pueden utilizarse con muestras de suero, plasma, orina, secreciones orales e, incluso, con gotas de sangre seca (una vez eluido). El examen dura de 2 a 4 horas (incluido el tiempo de preparación y dilución). Si es necesario confirmar el resultado, será necesario contar con otras 3 a 4 horas. Se recomienda seguir las instrucciones específicas de cada fabricante.

A continuación figuran los pasos que, en general, hay que dar para realizar una prueba de inmunovaloración enzimática:

1. Se diluye el espécimen en el buffer y se coloca en la placa con las hendiduras con antígeno de VIH adherido a la placa.

2. Se incuba la placa y se lava según lo indica el protocolo.

3. Se agrega conjugado de inmunoglobulina-enzima antihumana, que reacciona con el anticuerpo de VIH específico, cuando este está presente.

4. Se incuba.

5. Se lava la placa y se agrega substrato de enzima; se incuba según se indica.

6. Se agrega una solución para detener la reacción de la enzima y se lee la absorbencia de la solución en el espectrofotómetro.

La reacción es positiva cuando la muestra colocada en la hendidura de la placa cambia de color o se tiñe. El color señala la presencia de anticuerpos específicos al VIH. La reacción puede medirse mejor con un espectrofotómetro de placa de EIA.

Los siguientes elementos son indispensables para realizar con éxito la prueba de EIA:

- La fecha de la prueba tiene que estar vigente y no haber caducado.
- El equipo debe estar bien calibrado y bien mantenido.
- Deben seguirse estrictamente los tiempos de incubación y dilución descritos en las instrucciones del fabricante.
- El agua que se use deberá ser desionizada.
- Debe usarse un espectrofotómetro para leer los resultados de manera exacta y objetiva.
- El personal se habrá capacitado sobre las técnicas que se utilicen.
- Habrá energía eléctrica constante, ya que los cortes de luz afectan el almacenamiento de los reactivos y el funcionamiento del equipo.

4.1.3 Pruebas rápidas

4.1.3.1 Descripción general

Las pruebas rápidas se generaron en respuesta al interés de contar con exámenes de anticuerpos al VIH que pudieran dar resultados en el día y que se pudieran hacerse sin reactivos o equipo que no formen parte de la prueba propiamente tal. Son cuatro los principios inmunológicos que sirven de base a las pruebas rápidas actuales: aglutinación de partículas, inmunodot (tira sumergible), inmunofiltración (dispositivo inmunoadsorbente) e inmunocromatografía (flujo lateral) (ONUSIDA/OMS 1998). La mayoría de las pruebas rápidas contienen antígenos de VIH-1 y VIH-2 y detectan los anticuerpos a ambos (Tam 1999; ONUSIDA/OMS 1999). Los resultados positivos aparecen como amontonamiento, mancha, punto o línea, según el formato de la prueba que se use. Tanto la sensibilidad como la especificidad de las pruebas rápidas de última generación son similares a las de las EIA. En muchos países en desarrollo ya se está usando o evaluando pruebas para tamizaje, diagnóstico y vigilancia epidemiológica.

4.1.3.2 Características de las pruebas rápidas

Este tipo de pruebas es útil en los laboratorios pequeños que llevan a cabo diariamente menos de 100 exámenes de detección del VIH. También sirve para aquellos laboratorios que no cuentan con electricidad o equipo y en lugares donde la infraestructura de laboratorio es limitada. En ciertos casos, estas pruebas podrían presentar ventajas aun cuando se haga más de 100 exámenes diarios, pero que sea solo en algunos periodos del año. El resultado puede obtenerse normalmente en menos de 45 minutos y se interpreta fácilmente. Aún así, se requiere dar algo de capacitación para realizar la prueba de manera correcta y aprender a interpretar el resultado. Por lo general, los estuches de las pruebas contienen todos los reactivos necesarios para el análisis, y no se necesita agregar otros reactivos ni equipo. Muchas pruebas rápidas pueden realizarse sin electricidad, equipo especial, refrigeración o personal altamente calificado; sin embargo, algunas requieren refrigeración para ciertos reactivos que son sensibles al calor.

Las pruebas rápidas podrían servir para realizar exámenes confidenciales ligados entre los grupos de población menos accesibles desde el punto de vista social, como son las trabajadoras sexuales y las personas que usan drogas inyectables, o geográfico, en el caso de habitantes de lugares remotos. En estos casos la oportunidad de dar los resultados de los exámenes a cada persona después del contacto inicial es limitada. Por lo tanto, podría ser necesario hacer las pruebas (tamizaje y confirmación) en el mismo lugar y día en que se toma la muestra (Respess, Rayfield y Dondero 2001). Cuando esté previsto dar los resultados a la persona que sometió a la prueba, debe hacerse un examen de confirmación (por ejemplo, otra prueba rápida o EIA).

Normalmente las pruebas rápidas cuestan entre US$1 y $3, un poco más caras que las de EIA, aunque las primeras podrían ser más eficaces en relación con el costo que las últimas, si se toma en cuenta el costo adicional de la EIA (equipo, infraestructura de laboratorio, capacitación de tecnólogos). Asimismo, los pasos necesarios que conlleva una prueba rápida son muy pocos, por lo cual son menos también las oportunidades de cometer errores en comparación con la EIA. Por lo demás, la mayoría de las pruebas rápidas incluyen su propio sistema de control interno de calidad. No obstante, cuando se utilicen las pruebas rápidas es necesario establecer y poner en práctica medidas de garantía de calidad y control externo de calidad en todos los sitios en que se utilice.

RECOMENDACION

Las pruebas rápidas son útiles donde el uso de EIA no es factible o práctico y en zonas geográficas con poca infraestructura de laboratorio. Las pruebas rápidas también son apropiadas cuando se trata de poblaciones menos accesibles socialmente (usuarios de drogas inyectables, trabajadoras sexuales) o de habitantes de zonas geográficamente remotas. En estos casos probablemente sea necesario hacer el análisis y obtener el resultado en el lugar y día en que se toma la muestra.

Cuadro 4. Comparación de dos métodos de pruebas de VIH: inmunovaloración enzimática (EIA) y pruebas rápidas

Método de prueba	Especímenes	Ventajas	Desventajas	Costo[a] (en US$)	Grado de complejidad[b]
EIA	Suero Plasma Gotas de sangre seca Secreciones orales Orina	• Pueden someterse en lotes: sirven para ≥100 muestras a la vez. • Puede automatizarse. • Garantía de calidad/control de calidad en laboratorios nacionales y regionales; más fácil de controlar. • El costo unitario es más bajo que el de las pruebas rápidas. • Detecta tempranamente a las personas con seroconversión; es muy sensible y, por lo tanto, reduce el período no reactivo.	• No es flexible (es necesario completar un número mínimo de pruebas para lograr el máximo de eficiencia). • Necesita de tecnólogos capacitados para hacer el examen e interpretar los resultados. • Los resultados se obtienen en >2 horas (>5 horas cuando se requieren dos pruebas) • Se necesita equipo especial y mantenimiento del equipo. • Se necesita mantener los reactivos refrigerados.	1-2	4
Pruebas rápidas	• Suero • Plasma • Sangre completa • Secreciones oralesc	• Se puede examinar de 1 a 100 muestras a la vez. • Necesita un equipo y reactivos mínimos. • Se puede hacer en una clínica (en el lugar de toma de la muestra). • No requiere personal altamente calificado. • Se dispone de los resultados en <45 minutos. • Los insumos se pueden guardar a temperatura ambiente (más estabilidad)	• No son buenas para examinar más de 100 muestras a la vez. • Los sistemas de garantía de calidad y control de calidad funcionan en sitios múltiples, por lo que requieren más control. • Su costo por unidad es más alto que el de las EIA. • La selección de la estrategia de detección puede requerir varios especímenes. • Puede darse diferencia de resultados según quien los interpreta, especialmente con algunos formatos, por ejemplo, el de aglutinación de partículas.	1-3	Para pruebas con base en : Inmunocromatografía –1 Tira sumergible y membrana adsorbente–2 Aglutinación –3

a El costo del método de prueba que se use depende de los costos directos e indirectos.
b Las cuatro categorías definidas por el ONUSIDA y la OMS según el grado de complejidad de las pruebas de detección de anticuerpos al VIH son: 1) No requiere equipo ni experiencia de laboratorio adicional; 2) Requiere que se preparen los reactivos o un proceso de varios pasos; 3) Requiere cierta capacidad específica, por ejemplo, para hacer la dilución, y 4) Requiere equipo y técnicos de laboratorio capacitados (ONUSIDA/OMS 1998).
c Las pruebas rápidas de secreciones orales se están evaluando en el terreno.

4.1.3.3 Cómo se realiza una prueba rápida

Las pruebas rápidas pueden realizarse con muestras de suero, plasma, sangre completa o secreciones orales. Estas últimas actualmente se encuentran en la fase de evaluación en terreno. En el momento no se dispone de una prueba rápida para muestras de orina. En algunos tipos de pruebas rápidas la preparación del espécimen puede tomar de 10 a 20 minutos, pero las más sencillas no requieren preparación alguna. En consecuencia, es posible obtener resultados confirmados del examen en menos de 45 minutos, a partir del momento en que se aplica el dispositivo o la tira al espécimen. Deben seguirse las instrucciones que el fabricante incluye con el estuche de la prueba. La mayoría de los resultados se puede leer fácilmente ya que toma la forma de amontonamiento, mancha, punto o línea, según el tipo de prueba que se use.

Los siguientes elementos son fundamentales para el éxito de la prueba rápida:

- La fecha del estuche no debe haber caducado.
- Debe darse capacitación en el método que se use.
- Hay que seguir las instrucciones del fabricante.
- La persona que lee los resultados debe interpretarlos correctamente.

4.2 Estrategias de detección del VIH aplicadas a la vigilancia

El ONUSIDA y la OMS recomiendan tres criterios para seleccionar la estrategia de detección del VIH (es decir, la selección del método apropiado de detección o de una combinación de pruebas) (ONUSIDA/OMS 1998):

1. Objetivo de la prueba (vigilancia, tamizaje de la sangre o diagnóstico)

2. Sensibilidad y especificidad de la(s) prueba(s) que se elija

3. Prevalencia del VIH en la población objeto de la prueba

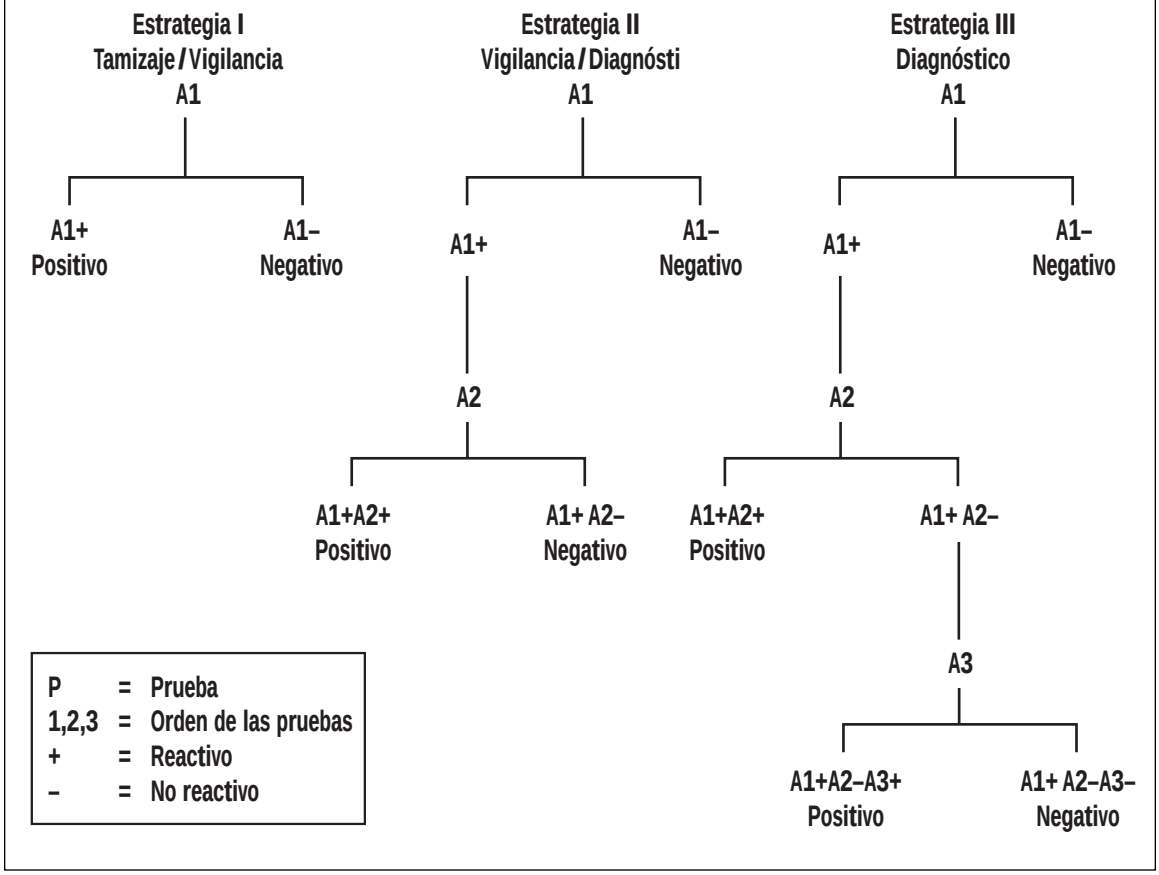
Una vez definidos estos criterios, la estrategia de detección del VIH puede seleccionarse de modo que logre una sensibilidad y especificidad máximas con un costo mínimo. Las tres estrategias recomendadas por ONUSIDA y la OMS son (Véase la figura 4):

Estrategia I:
- Solo necesita una prueba.
- Se usa para hacer el diagnóstico en grupos de población con una prevalencia de más de 30% entre las personas con signos o síntomas clínicos de infección por VIH.
- Se usa para el tamizaje de sangre en todas las situaciones, al margen de la tasa de prevalencia.
- Se usa para la vigilancia entre grupos de población cuya prevalencia de infección por VIH es más de 10% (por ejemplo, vigilancia por medio de pruebas anónimas no ligadas entre mujeres embarazadas que se atienden en clínicas prenatales). No se entregan los resultados.

Estrategia II:
- Requiere un máximo de dos pruebas.
- Se usa para el diagnóstico en poblaciones cuya prevalencia de infección por VIH es menos de 30% entre personas que presentan signos o síntomas clínicos de la infección o más de 10% entre individuos asintomáticos.
- Se usa en la vigilancia dirigida a grupos de población cuya prevalencia de infección por VIH es menos de 10% (por ejemplo, pruebas anónimas no ligadas para la vigilancia entre pacientes de clínicas de atención prenatal o infecciones de transmisión sexual). No se entregan los resultados.

Estrategia III:
- Requiere un máximo de tres pruebas.
- Se usa para el diagnóstico de poblaciones cuya prevalencia de infección por VIH es menos de 10% entre personas asintomáticas.

Figura 4. Estrategias de detección del VIH recomendadas por ONUSIDA y la OMS



En el caso de las estrategias que puedan requerir más de una prueba (la II y la III de las mencionadas), la selección del método de la prueba y el orden en que se aplica (algoritmo) son importantes para lograr resultados correctos. En primer lugar las pruebas deben hacerse con

antígenos distintos. Segundo, la primera prueba debe tener máxima sensibilidad y la segunda, máxima especificidad. La primera prueba corresponde al tamizaje, de modo que idealmente debe ser muy sensible para detectar todos los casos positivos. Dado que habrá algunos casos falsos positivos, la segunda prueba (de confirmación) deberá ser de alta especificidad, para garantizar que todos los casos verdaderamente negativos se detectan como tales. Además, cuando se usa la II o la III estrategia, se recomiendan pruebas de suero, plasma o sangre seca, de modo que puedan realizarse varias pruebas sobre el mismo espécimen y evitar así tener que obtener otras muestras.

Para las pruebas que usan secreciones orales o sangre de punción digital, el espécimen se coloca directamente en el aparato de la prueba rápida, por consiguiente, será necesario obtener una segunda muestra para la confirmación, si es que la primera resulta reactiva. En consecuencia, para la I y la II estrategia se recomienda que, dentro de lo posible, se realicen dos pruebas rápidas simultáneamente con el mismo espécimen o producto de la misma punción digital y luego se analicen como si se hubieran obtenido consecutivamente.

Esta situación puede surgir como parte de los exámenes confidenciales ligados de poblaciones de difícil acceso. En tales casos se presenta una oportunidad única para obtener el consentimiento informado, tomar la muestra, hacer la prueba y dar los resultados y la consejería al cliente. Las pruebas rápidas son las únicas que funcionan de modo tal que se pueda hacer el tamizaje y la confirmación en el mismo sitio durante un mismo día. Si la muestra es de sangre, se pueden preparar gotas de sangre seca con el objeto de realizar el control de calidad (Respess, Rayfield y Dondero 2001).

RECOMENDACION

Cuando se apliquen la II o la III estrategia, se recomiendan las pruebas de suero, plasma o gotas de sangre seca, de modo que pueda hacerse más de una prueba con una muestra única para evitar tener que obtener especímenes adicionales.

5.0 Selección y evaluación de las técnicas utilizadas para los exámenes de detección del VIH aplicadas a la vigilancia del virus

RESUMEN

Selección y evaluación de la tecnología de los exámenes de detección del VIH

- Elementos de la selecció

  Recomendaciones de ONUSIDA/OMS Recommendations Regarding Selection of EIAs or Rapid Test)

  Informe anual de ONUSIDA/OMS Annual Report of Operational Characteristics of Available Tests in Laboratory Settings

  Características operativas de las pruebas en el terreno
  Condiciones nacionales
- Evaluación nacional de las pruebas seleccionadas

  Evaluación de las pruebas en el laboratorio nacional de referencia, laboratorio regional y entornos donde existe la mayor posibilidad de que se usen

En muchos países se usa una variedad de técnicas y algoritmos para la detección del VIH. Por ejemplo, un laboratorio nacional de referencia puede hacer la primera detección con una prueba rápida y confirmar el resultado con una de inmunovaloración enzimática; por su parte, el laboratorio regional podría estar usando pruebas rápidas diferentes a las del laboratorio nacional tanto para detección como para confirmación. Estas diferencias obligarán al coordinador de la vigilancia a llevar un registro de todas las técnicas y algoritmos que se utilicen en el país para detectar y confirmar el VIH. Asimismo, con el fin de garantizar que los datos de la vigilancia sean fidedignos y comparables a lo largo del tiempo, habrá que reducir a un mínimo las técnicas utilizadas para las pruebas de VIH en el país.

RECOMENDACION

El coordinador de la vigilancia del VIH deberá llevar un registro de todas las técnicas y algoritmos que se utilicen en el país para detectar y confirmar el VIH.

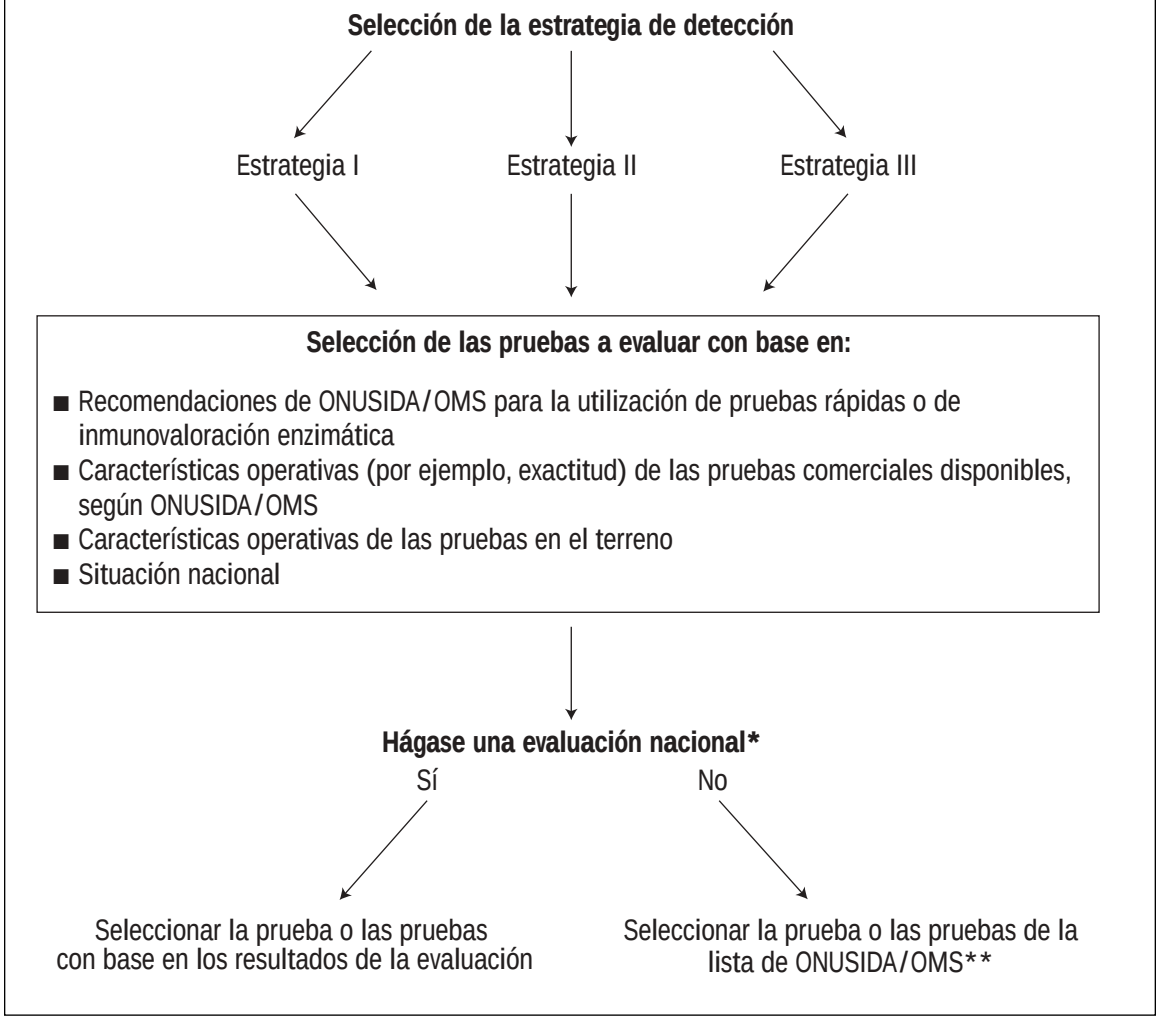
5.1 Selección de los exámenes

En los países en desarrollo, la selección de la técnica más apropiada para el examen de VIH puede ser una tarea compleja, ya que es posible que no se cuente con un grupo técnico asesor que pueda estudiar y evaluar las pruebas disponibles. En consecuencia, la agencia de coo-

peración financiera acaba siendo la que selecciona la prueba, con base en el precio o por influencia del fabricante. Por el contrario, si el país cuenta con una infraestructura nacional de laboratorio adecuada, las técnicas para las pruebas podrían evaluarse en los propios laboratorios nacionales. No obstante, la evaluación nacional de estas técnicas a menudo puede verse limitada por el costo y la falta de personal capacitado para llevarla a cabo y por la falta de capacidad para procesar las muestras y transportarlas al laboratorio nacional.

Cuando no sea posible hacer una evaluación nacional, el país debe analizar los elementos pertinentes a la selección y así elegir la prueba de la lista actual preparada por el ONUSIDA y la OMS o seleccionar la prueba con base en las evaluaciones que haya llevado a cabo algún ente independiente sin fines de lucro, de preferencia en la región.

Figura 5. Selección de la prueba de detección del VIH



* Determinar la sensibilidad y especificidad de las pruebas elegidas en el ámbito clínico y del laboratorio.
** Seleccionar la mejor prueba o pruebas, para la II y la III estrategia, ordenar las pruebas.

RECOMENDACION

Antes de elegir las pruebas para un determinado país, habrá que evaluar su exactitud y características operativas en ese país; si eso no fuera posible, se seleccionarán las pruebas después de una evaluación independiente realizada por una institución sin fines comerciales.

Elementos de la selección

En primer lugar habrá que seleccionar el tipo de técnica de detección del VIH que se usará, ya sea inmunovaloración enzimática, pruebas rápidas o una combinación de ambas. Seguidamente, se analizarán las características operativas de la técnica en relación con la infraestructura nacional y la capacidad del personal de laboratorio, y en cuanto a la disponibilidad de un sistema de garantía de calidad y medidas de control.

8 Recomendaciones de ONUSIDA/OMS en cuanto a la selección de pruebas de inmunovaloración enzimática o rápidas (Recommendations Regarding Selection of EIAs or Rapid Tests). El ONUSIDA y la OMS recomiendan, de preferencia, el uso de pruebas rápidas en vez de la inmunovaloración enzimática en zonas geográficas remotas o donde no se cuenta con infraestructura de laboratorio y en hospitales pequeños donde se realizan menos de 100 exámenes diariamente. En estos casos las pruebas rápidas toman menos tiempo y son más fáciles de hacer; además, la mayoría duran más tiempo que los reactivos de las pruebas de inmunovaloración enzimática (ONUSIDA/OMS 1998). Las pruebas rápidas son ideales en los niveles locales, dado que son sencillas y sus costos indirectos son bajos (especialmente en cuanto a equipo y su mantenimiento). El ONUSIDA y la OMS recomiendan el uso de las pruebas de inmunovaloración enzimática en lugares donde se cuenta con buena infraestructura de laboratorio y personal capacitado y para hospitales que realizan más de 100 análisis por día. La utilización de estas pruebas resulta eficiente cuando las muestras se procesan en lotes. Asimismo, su aplicación en los laboratorios nacionales o regionales es fácil (ONUSIDA/OMS 1998).

- Informe anual de OMS Annual Report of Operational Characteristics of Commercially Available HIV Tests (Características operativas de las pruebas de VIH disponibles comercialmente, http://www.who.int/bct/BTS). La OMS y el ONUSIDA publican un informe anual sobre las características operativas de las pruebas de VIH que se encuentran en el mercado. El informe incluye una evaluación de las pruebas según su sensibilidad y especificidad, facilidad de utilización, aplicabilidad en laboratorios pequeños y costo (ONUSIDA/OMS 1999). Para obtener ejemplares de este informe debe solicitarse a ONUSIDA u OMS en las siguientes direcciones electrónicas: unaids@unaids.com o publications@who.int. Como ya se indicara en la sección 4.2, se recomienda utilizar pruebas que sean sumamente exactas con el fin de disminuir el número de resultados falsos negativos y falsos positivos. Las nuevas recomendaciones de ONUSIDA y la OMS señalan que las pruebas de anticuerpos al VIH propuestas para la vigilancia centinela deben mostrar una especificidad de por lo menos 95% (ONUSIDA/OMS 1998). Actualmente la mayoría de las pruebas disponibles tienen una especificidad de 98% o más, pero la sensibilidad y especificidad real de las pruebas en el campo varían según el origen geográfico de los especímenes (ONUSIDA 1997).

- Características operativas de las pruebas aplicadas en el terreno. Es importante considerar las características operativas de las pruebas seleccionadas aplicadas al país en el cual se pondrán en uso. Las más importantes son la facilidad con que se pueden usar, el costo unitario, cómo se almacenan, duración, equipo necesario y su mantenimiento, necesidad de capacitación y disponibilidad constante de los insumos de parte de los fabricantes (ONUSIDA 1997).
- Condiciones nacionales. Las características del país que habrá que tomar en cuenta para seleccionar la prueba incluyen el número de análisis que se hará diariamente, la capacidad técnica del personal de laboratorio, el costo de las pruebas, la infraestructura de laboratorio, la existencia de un laboratorio de referencia, medidas de control y garantía de calidad en el laboratorio, capacidad de almacenamiento (control de temperatura y refrigeración) y logística (por ejemplo, suministros y energía eléctrica).

5.2 Evaluación nacional de los exámenes seleccionados

Idealmente habrá que evaluar las técnicas de laboratorio seleccionadas por el país con el fin de 1) determinar la sensibilidad y especificidad de las pruebas de VIH disponibles comercialmente en el país y 2) validar los distintos algoritmos de las pruebas con base en los resultados de la sensibilidad y especificidad de las pruebas evaluadas (Branson 2000). La evaluación nacional puede hacerse en tres etapas (Recuadro 3). La primera etapa se lleva a cabo en el laboratorio nacional de referencia con el fin de determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba en condiciones ideales de laboratorio. En las fases siguientes, se utilizan especímenes obtenidos de manera prospectiva. En la segunda fase, se obtienen las muestras en unos cuantos servicios regionales y se evalúan en los laboratorios análogos. En una tercera fase, se obtienen las muestras y se evalúan en condiciones reales de terreno.

Evaluaciones como esta, en tres etapas, ya se han realizado en Honduras y Uganda (Stetler et al. 1997; Downing et al. 1998). En Honduras se hizo la primera fase de la evaluación de siete pruebas rápidas con 600 especímenes almacenados en el laboratorio nacional de referencia. Se seleccionaron cinco pruebas por su sensibilidad, especificidad y facilidad de aplicación; estas pasarían a una segunda fase en que se evaluaría de manera prospectiva con 900 especímenes. Tres de estas cinco pruebas pasaron a la fase siguiente, la tercera, que se realizaría en hospitales y servicios de salud. Se calcularon los valores predictivos positivos y negativos para diversos algoritmos que incluían las tres pruebas con el fin de determinar cuál de ellos sería el mejor. En el recuadro 3 se presenta un resumen de las tres etapas que conlleva una evaluación nacional, que habrá que adaptar y ampliar en cada país.

Recuadro 3. Resumen general de una evaluación nacional de las técnicas para los exámenes de detección del VIH

Primera fase: Evaluación retrospectiva de la sensibilidad y especificidad de las pruebas seleccionadas a cargo del laboratorio nacional de referencia

- Se seleccionan aproximadamente 500 especímenes de suero o plasma (uno 250 positivos y 250 negativos al VIH) de las muestras almacenadas en congelación (por ejemplo, muestras obtenidas para la vigilancia) o de sangre de los bancos de sangre.
- Antes de conducir la evaluación de las pruebas habrá que crear un panel constituido de aproximadamente 25 especímenes positivos y 25 negativos al VIH para evaluar la pericia de los tecnólogos que realizarán la prueba. Los técnicos que pasen la prueba de pericia analizarán los especímenes con las pruebas seleccionadas de acuerdo con los algoritmos actuales y sin saber cuáles muestras son positivas o cuáles negativas.* El algoritmo vigente será considerado como estándar de oro y será el baremo contra la cual se comparen las pruebas seleccionadas. A continuación se determinan la sensibilidad y especificidad de la prueba.

Segunda fase: Evaluación prospectiva de las pruebas seleccionadas en los laboratorios regionales

- Si en la primera fase se determina que funcionan bien, es decir, su sensibilidad y especificidad son adecuadas y son fáciles de usar, las pruebas seleccionadas se evaluarán prospectivamente, junto con las pruebas actualmente en uso, en unos pocos laboratorios regionales y hospitales del país. Habrá que obtener unos 100 especímenes positivos y 200 negativos al VIH por sitio (en total habrá que contar con unos 600 a 900 especímenes).
- Cada espécimen recibirá un código único que más tarde se pueda parear con la información demográfica correspondiente a cada sitio participante. Una forma de seleccionar los especímenes es utilizando los que habían dado resultados positivos con las pruebas en uso para evaluarlos con las pruebas nuevas. Por cada espécimen positivo se analizará un par de especímenes negativos al VIH, hasta alcanzar en total un número de 100 muestras positivas y 200 negativas.
- La sangre se analizará con las nuevas pruebas seleccionadas según las instrucciones del fabricante; también se examinará con las pruebas en uso actualmente siguiendo los algoritmos habituales. Solo se entregarán los resultados de las pruebas aplicadas según los algoritmos nacionales vigentes. Por lo tanto, los clientes no recibirán los resultados de las pruebas que se están estudiando.
- Los resultados de las pruebas de detección del VIH obtenidos con los algoritmos vigentes constituirán el estándar de oro, y serán el patrón contra el cual se comparará la sensibilidad y especificidad de las nuevas pruebas seleccionadas. La sensibilidad y especificidad obtenidas en esta segunda fase servirán para seleccionar dos o tres pruebas que pasarán a la tercera fase de evaluación.

Tercera fase: evaluación prospectiva de las pruebas seleccionadas en el lugar donde se usarían

- Se juntarán, prospectivamente, muestras de sangre de unas 500 a 900 de cuatro a seis servicios donde sea más probable que se vayan a utilizar las nuevas pruebas seleccionadas. Como mínimo se debería contar con 50 muestras positivas al VIH de cada servicio. Los mejores resultados se obtienen de lugares con tasas altas de prevalencia de la infección.
- En estos servicios se llevará a cabo el mismo procedimiento de selección utilizado en la segunda fase.
- Se determinará la sensibilidad y especificidad de cada una de las pruebas y algoritmos seleccionados , que se compararán con los obtenidos con los algoritmos vigentes. Los resultados de la evaluación de las nuevas pruebas y algoritmos seleccionados se usarán para recomendar las pruebas y algoritmos se usarán en el país.

6.0 Garantía de calidad y seguridad en el laboratorio

RESUMEN

Garantía de calidad y seguridad en el laboratorio

- Garantía de calidad nacional
  Pruebas de pericia
- Garantía de calidad en el laboratorio
  Fase preanalítica
  Fase analítica
  Fase posanalítica
- Seguridad

Es necesario contar con pruebas que se caractericen por su fiabilidad y posibilidad de reproducir los resultados a lo largo del tiempo. Estos son componentes importantes de la vigilancia serológica del VIH. El hecho de disponer de pruebas de detección del VIH sumamente exactas no garantiza que los resultados de los análisis de laboratorio sean fidedignos. Son muchos los procesos por los que pasa una muestra desde que llega al laboratorio hasta que se registran los resultados, y pueden darse errores (ONUSIDA/OMS 1996). Por lo tanto, es indispensable realizar un monitoreo constante del sistema de laboratorio, tanto interno como externo. La garantía de calidad es un proceso constante y dinámico de monitoreo de un sistema con el fin de que produzca resultados fiables y reproducibles y que permita tomar medidas correctivas cuando no se sigan los criterios establecidos.

6.1 Garantía de calidad en el ámbito nacional

En todos los países debería ser un requisito que todos los laboratorios participen en un sistema externo de garantía de calidad en relación con su desempeño. El laboratorio nacional de referencia, en colaboración con el programa nacional de SIDA, deberá vigilar la eficacia de los sistemas de garantía de calidad de los laboratorios participantes para determinar qué servicios podrían estar necesitando más capacitación de su personal u otro tipo de apoyo.

El método más corriente de garantía de calidad externa del desempeño de un laboratorio es el que utiliza pruebas de pericia (ONUSIDA/OMS 1996). En estos casos, el laboratorio nacional de referencia manda un panel de pericia de más o menos seis especímenes a cada laboratorio participante, para que determinen si las muestras son positivas o negativas respecto al VIH. El panel debe contener muestras positivas y negativas (de débiles a fuertes) que sean representativas de las cepas que circulan en el país y de las distintas etapas de la infección por VIH (ONUSIDA/OMS 1996). Este ejercicio deberá hacerse una o dos veces al año. En zonas

geográficas donde la infraestructura del laboratorio es débil, los laboratorios podrán preparar manchas de sangre seca en papel de filtro para ser analizadas en el laboratorio nacional de referencia, con el fin de hacer el control de calidad. La garantía externa de calidad referida al laboratorio nacional de referencia puede llevarla a cabo un laboratorio independiente (por ejemplo, de una universidad) o un laboratorio de los programas regionales de la OMS para garantía de calidad.

El sistema de garantía de calidad puede ayudar a establecer buenas prácticas de laboratorio por medio de la aplicación de procedimientos estándar. También facilitará el intercambio de información entre los laboratorios (ONUSIDA/OMS 1996). También es importante entregar información a los laboratorios participantes en relación con la evaluación de su desempeño. El sistema de garantía de calidad deberá constituir parte de los manuales de procedimientos que utilizan los técnicos y otro personal del laboratorio. El cumplimiento de este tipo de normas permitirá dar máxima fiabilidad y exactitud a los resultados de las pruebas.

RECOMENDACION

Deberá exigirse en todos los países que todos los laboratorios, sea cual sea su grado de complejidad (de referencia, de hospitales, servicios de transfusión sanguínea y laboratorios particulares), participen en un sistema externo de garantía de calidad del desempeño del laboratorio.

6.2 Garantía de calidad en el laboratorio

En todos los niveles (nacional, regional y local) los laboratorios que realizan pruebas de detección de VIH deben contar con un programa interno, funcional de garantía de calidad. Cada uno de los laboratorios que realice exámenes de VIH debe hacer un monitoreo regular del proceso y determinar la calidad del mismo en las fases preanalítica, analítica y posanalítica.

6.2.1 Fase preanalítica

Esta fase incluye los siguientes elementos:

- Capacitación
- Seguridad del laboratorio
- Número de técnicos capacitados y disponibles para hacer las pruebas de detección del VIH
- Obtención, rotulación y transporte de la muestra
- Tratamiento de la muestra antes de la prueba
- Fuente y tipo de especímenes analizados
- Número de especímenes analizados
- Selección de los estuches de prueba
- Fecha de caducidad de los estuches. Estos deben usarse antes de la fecha de vencimiento, las que normalmente figuran en una cara lateral de la caja. Para usar los suministros nece-

sarios para las pruebas de manera más eficiente, habrá que utilizar las existencias de modo que los estuches más viejos se usen antes de su fecha de vencimiento y con anterioridad a los estuches más nuevos.

6.2.2 Fase analítica

La fase analítica está constituida por el análisis de laboratorio propiamente tal. Algunos componentes del programa de garantía de calidad son:

- Procesamiento y almacenamiento de las muestras
- Manual de procedimientos escrito
- Preparación de reactivos
- Desempeño durante el análisis
- Funcionamiento y mantenimiento del equipo (por ejemplo, espectrofotómetros, lavadoras)
- Uso correcto de los reactivos
- Controles internos de calidad como parte de los estuches de prueba
- Procedimientos de monitoreo del control de calidad

6.2.3 Fase posanalítica

La fase posanalítica incluye todos los procedimientos que siguen después de haber examinado el espécimen, es decir:

- Interpretación de los resultados
- Transcripción de los resultados, vale decir, registro de los resultados junto al código de identificación correcto
- Ingreso de la información en un sistema de control (computarizado o en papel)
- Mantenimiento de registros
- Análisis del control de calidad

6.3 Procedimientos de seguridad

Es indispensable tomar precauciones de seguridad, las que se deberá observar en todos los pasos del proceso de análisis de la muestra: durante la toma, el almacenamiento y la disposición de los deshechos biológicos, de modo de reducir al mínimo el riesgo laboral. Para mayor detalle, véanse las precauciones de seguridad de la OMS (OMS 1991) y de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC 1988). En el Apéndice I se resumen las precauciones para evitar la transmisión sanguínea del VIH y otros agentes patógenos. Si se desea obtener información sobre profilaxis después de una exposición, se recomienda consultar al programa nacional de SIDA correspondiente.

Nuevamente, es indispensable tomar las medidas apropiadas para el desecho de material de laboratorio contaminado (OMS 1991). Todo desecho contaminado que salga del servicio de salud o laboratorio debe ser descontaminado antes de tirarlo. Entre ellos se incluyen mues-

tras de líquidos corporales, restos de equipo de vidrio roto y envases donde se desechan agujas contaminadas (Richmond y McKinney 1993). Habrá que contar con métodos para descontaminar todo desecho contaminado (autoclave, desinfección química, incineración). Todo material sujeto a descontaminación o a ser descartado fuera del laboratorio se colocará en envases a prueba de pérdidas antes de sacarlo del laboratorio.

Apéndice. Precauciones universales para prevenir la transmisión sanguínea del VIH, el virus de la hepatitis B y otras infecciones en el ámbito de la atención de la salud

El riesgo de transmisión sanguínea del VIH, el virus de la hepatitis B y otras infecciones en el medio hospitalario puede reducirse al mínimo, si el personal toma las precauciones generales que figuran a continuación:

1. Habrá que evitar las heridas de agujas, bisturíes u otro equipo o instrumentos punzantes o cortantes durante o después de los procedimientos, al limpiar los instrumentos o al descartar las agujas. No se deben volver a tapar las agujas ni sacarlas de las jeringas manualmente. Tampoco habrá que doblar, quebrar o manipular las agujas con las manos. Las jeringas, agujas, navajas de bisturí y otros instrumentos punzantes deben descartarse en envases resistentes que no se rompan con los pinchazos.

2. El personal de salud deberá usar barreras de protección (guantes, por ejemplo) para evitar exponerse al contacto con la sangre, líquidos corporales en los que se vea sangre u otros líquidos a los que se aplican las precauciones universales. El tipo de barrera debe ser adecuado para el procedimiento y tipo de exposición previstos.

3. Tanto las manos como otras partes de la piel contaminadas con sangre, líquidos corporales en los que se vea sangre u otros líquidos a los que se aplican las precauciones universales deberán lavarse inmediatamente y con todo cuidado.

Uso de guantes durante la extracción de sangre

El uso de guantes durante la extracción de sangre debería reducir la posibilidad de contaminación de las manos durante el procedimiento, pero no evita las heridas punzantes causadas por agujas u otros instrumentos. Como parte de las precauciones universales, se parte de la base de que toda la sangre está potencialmente infectada con algún agente patógeno de transmisión sanguínea, aunque se sabe que, en algunos medios (por ejemplo, en los centros de donación de sangre), la prevalencia de infecciones por estos agentes es muy baja.

Las instituciones que decidan que el uso corriente de guantes para extraer sangre no es necesario deberían reconsiderar periódicamente su política. Habrá que contar siempre con guantes para que el personal de salud que así lo desee pueda usarlos durante procedimientos de extracción de sangre. Asimismo, habrá que aplicar las siguientes normas:

1. Uso de guantes durante la extracción de sangre siempre que el trabajador de salud tenga cortes, rasguños u otra solución de continuidad de la piel.

2. Uso de guantes cuando el personal de salud estime que la situación podría prestarse a contaminación con sangre, por ejemplo, al extraer sangre de un paciente que no coopere.

3. Uso de guantes al sacar sangre de los dedos o talones de bebés y niños.

4. Uso de guantes durante sesiones de adiestramiento sobre cómo extraer sangre de un paciente.

5. Uso de guantes estériles en procedimientos en los que normalmente se entra en contacto con tejidos corporales estériles. Uso de guantes dea examen para procedimientos que incluyen contacto con mucosas, a no ser que se indique lo contrario, y al atender al paciente o durante otros procedimientos para los cuales no sea necesario utilizar guantes estériles.

6. Cambio de guantes entre la atención de un paciente y otro.

7. No deberán lavarse o desinfectar los guantes de examen ni los quirúrgicos con el fin de volverlos a usar. El lavado con surfactantes puede causar perforaciones invisibles en los guantes y hacerlos permeables a los líquidos. El uso de desinfectantes puede deteriorar los guantes.

8. Para las tareas de limpieza general en las que podría haber contacto con sangre y para limpiar los instrumentos y realizar procedimientos de descontaminación pueden utilizarse guantes de goma corrientes de uso doméstico. Estos sí pueden descontaminarse después de su uso y volverse a utilizar, pero habrá que tirarlos si es que se están pelando, partiendo o decolorando, o si se han pinchado, rasgado o muestran otras señas de deterioro.

Fuente: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Perspectives in disease prevention and health promotion update: Universal precautions for the prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and other pathogens in health-care settings. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1988; 37(24):377-88.

Glosario

Código: Se usa un código para marcar un espécimen. Es único y corresponde solo a una muestra y, en algunos casos, puede ligarse a información sobre características personales y en otros no.

Consentimiento informado: medida guiada por el principio que establece que las personas competentes tienen derecho a tomar sus propias decisiones en cuanto a su participación en ciertas actividades que surgen de la relación profesional entre el paciente o cliente y su proveedor de servicios de salud. El consentimiento informado protege la libertad de decidir de las personas y respeta su autonomía, especialmente en cuanto a las decisiones que afectan su cuerpo y su salud.

Epidemia concentrada: es aquella en que el VIH se ha difundido rápidamente en un grupo de población determinado, pero no así entre la población en general. (La prevalencia del VIH se ha mantenido constante, por encima del 5%, en por lo menos un grupo de población específico y es de menos de 1% entre las mujeres embarazadas de las zonas urbanas).

Epidemia generalizada: es aquella en que el VIH se encuentra bien establecido entre la población en general. (La prevalencia del VIH se encuentra constantemente por encima del 1% entre las mujeres embarazadas.)

Epidemia de bajo nivel: es aquella que, a pesar de que lleva muchos años, nunca ha alcanzado un grado significativo de infección en ningún grupo de población en particular. (La prevalencia del VIH no ha pasado de 5%, de manera constante, en ningún grupo de específico de población.

Especificidad de una prueba: medida de la probabilidad de que la prueba detecte correctamente a una persona que no tiene la infección por VIH.

Estrategia de detección: uso de la prueba correcta o combinación de pruebas de detección del VIH. La elección de la estrategia depende del objetivo de la prueba, de su especificidad y sensibilidad, y de la prevalencia del VIH en la población sometida al examen. Las estrategias se crearon para obtener un máximo de exactitud con un mínimo de costo.

Garantía de calidad: proceso constante y dinámico de monitoreo de un sistema con el fin de que produzca resultados fiables y reproducibles y que permita tomar medidas correctivas cuando no se sigan los criterios establecidos.

Incidencia: es el número de casos nuevos de infección o enfermedad que se presenta en una

población determinada en un período de tiempo definido (es la tasa de incidencia).

Inmunovaloración enzimática: es un tipo de prueba de VIH que detecta anticuerpos al virus. Funciona por la interacción primaria de antígeno y anticuerpo y puede usarse con lisado completo de VIH o con uno o más antígenos del virus.

Panel de (examen de) pericia: panel que contiene especímenes positivos y negativos (de débiles a fuertes) que sean representativos de las cepas que circulan en el país y de las distintas etapas de la infección por VIH. El panel tiene aproximadamente seis muestras y debe enviarse a los laboratorios participantes una o dos veces al año para pruebas de garantía de calidad.

Prevalencia: es el porcentaje de personas en una población determinada que presenta una enfermedad o afección en un período dado.

Pruebas anónimas ligadas: en este tipo de prueba, cuando una persona accede a hacérsela, la muestra recibe un código que no lleva el nombre del individuo ni otro tipo de marca que sirva para identificar a la persona. El método es voluntario y para realizarlo se requiere consentimiento informado y la entrega de los resultados al individuo que dio la muestra (con la consejería correspondiente).

Prueba no ligada: tipo de examen en el que la muestra de sangre se extrae con otros propósitos y se le hace la prueba del VIH después de haberle quitado toda información que pudiera servir para identificar a la persona que dio la muestra.

Prueba confidencial ligada: en este tipo de prueba, la persona que accede a hacerse el examen de anticuerpos al VIH lo hace con la condición de que el resultado se mantenga confidencial y que solo se le informe a ciertos miembros del equipo de salud. El método es voluntario y para realizarlo se requiere consentimiento informado y una discusión de los resultados con el individuo que dio la muestra. Este método permite obtener información demográfica y de los comportamientos de riesgo más detallada.

Prueba rápida: prueba de detección de anticuerpos al VIH que es sencilla y no requiere contar con reactivos o equipo que no sea parte del estuche provisto por el fabricante y da resultados rápidamente.

Sensibilidad de una prueba: medida de la probabilidad de que la prueba detecte a una persona infectada por el VIH.

Valor predictivo negativo: en relación con las pruebas de detección del VIH, el valor predictivo negativo es la probabilidad de que una persona que tiene un resultado negativo efectivamente no esté infectada.

Valor predictivo positivo: en relación con las pruebas de detección del VIH, el valor predictivo positivo es la probabilidad de que una persona que tiene un resultado positivo efectivamente esté infectada.

Vigilancia centinela: tipo de vigilancia que se lleva a cabo en puestos centinela mediante los cuales se obtiene acceso a grupos de población de interés especial o que representan una población más grande.

Vigilancia serológica: estudio epidemiológico que se usa para determinar la presencia o ausencia de anticuerpos al VIH por medio de un examen serológico. Así es posible detectar, además de los casos clínicos manifiestos, infecciones de carácter subclínico y portadores de la infección.

Vigilancia del VIH de segunda generación: sistema de vigilancia creado por la Organización Mundial de la Salud y el Programa Conjunto de Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA. Es un marco conceptual para mejorar la vigilancia del VIH. Las guías para la vigilancia de segunda generación del VIH recomiendan algunos métodos para mejorar el uso de los datos y aumentar y perfeccionar la respuesta a la epidemia de infección por VIH.

Western blot: tipo de prueba de detección del VIH que usa un método de electroblot, en el cual se transfieren proteínas de un coloide gelatinoso a un soporte delgado, rígido; el virus se detecta cuando el anticuerpo rotulado se adhiere al VIH.